

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Comparación de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 en la semilla de lino (*Linum usitatissimum*)  
ecuatoriana y canadiense por cromatografía de gases.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas con  
mención en Química Analítica

JESSICA DEL PILAR DURÁN CÓRDOVA

Quito, 2014

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, de la candidata Jessica del Pilar Durán Córdova ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentado para la calificación correspondiente

Fecha:

---

Mgr. Pablo Pozo Pantoja

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar a mi madre Ligia del Pilar Córdova Jiménez quien en vida me supo alentar y apoyar con cariño y amor a lo largo de toda mi carrera universitaria. Siempre será para mí un ejemplo de superación, inspiración, constancia, tenacidad y lucha. A mi padre Francisco Durán quien con amor y rigor me supo incentivar a seguir siempre adelante en mi vida, dándome la seguridad y confianza que iba a lograr todo lo que me proponía. A mi hermano Francisco Javier quien ahora para mí es un ejemplo de transformación, lucha y superación. A mi novio Carlos quien siempre creyó en mí y con amor, incondicionalidad y las palabras exactas me ha sabido apoyar en muchas situaciones de mi vida.

A todos los profesores de la Escuela de Química Analítica, quienes llevaré siempre en el corazón por ser personas y educadores excelentes. A mis amigos Valeria, Andrés, Pamela, y Elizabeth con quienes compartí cuatro años llenos de sacrificio, noches enteras de estudio y sobre todo muchos buenos momentos que recordaré toda la vida.

Finalmente agradezco a mi director de tesis Mtr. Pablo Pozo Pantoja quien me ha sabido direccionar y ayudar en todo momento para concluir con esta disertación.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>ii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>4</b>
<b>PARTE TEÓRICA</b> .....	<b>4</b>
1.1 EL LINO Y LA SEMILLA DE LINO .....	4
1.1.1 CARACTERÍSTICAS Y CRECIMIENTO DEL LINO .....	4
1.1.2 HISTORIA .....	5
1.1.3 ESPECIES DE LINO .....	5
1.1.4 CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO DE LA PLANTA DE LINO.....	6
1.1.5 DISTRIBUCIÓN MUNDIAL .....	6
1.1.6 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL .....	8
1.1.7 SEMILLA DE LINO CANADIENSE.....	9
1.1.8 SEMILLA DE LINO ECUATORIANA .....	10
1.1.9 USOS Y BENEFICIOS ACTUALES DE LA SEMILLA DE LINO .....	11
1.1.10 CONSUMO DE LA SEMILLA DE LINO .....	15
1.2 LÍPIDOS .....	16
1.2.1 PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS .....	16
1.2.2 FUNCIONES.....	16
1.2.3 CLASIFICACIÓN.....	17
1.3 TRIGLICÉRIDOS .....	18
1.4 ÁCIDOS GRASOS .....	18
1.4.1 PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS .....	19

1.4.2 FUNCIONES.....	20
1.5 ÁCIDOS GRASOS OMEGA .....	22
1.5.1 CLASIFICACIÓN.....	22
1.5.2 OMEGA 3.....	23
1.5.3 OMEGA 6.....	24
1.5.4 OMEGA 9.....	25
1.6 EXTRACCIÓN DE GRASA.....	26
1.6.1 MÉTODO SOXHLET .....	26
1.7 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS .....	28
1.7.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID).....	29
1.7.1.1 COMPONENTES DEL CROMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID).....	30
1.7.1.2 FUNCIONAMIENTO DEL CROMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID).....	32
1.7.1.3 DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS PARA CUANTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID) .....	33
1.7.1.4 CUALIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN EN CROMATOGRAFÍA DE GASES .....	34
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>37</b>
<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>37</b>
2.1 DESARROLLO Y ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES-FID.....	37
2.2 PREPARACIÓN Y VALIDACIÓN DE CURVAS DE CALIBRACIÓN .....	44

2.3 TRATAMIENTO DE MUESTRA.....	51
2.3.1 MUESTREO DE LAS SEMILLAS DE LINO .....	51
2.3.2 EXTRACCIÓN DE GRASA DE LAS SEMILLAS DE LINO POR EL MÉTODO SOXHLET .....	53
2.3.3 DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE LINO .....	56
2.3.4 PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE LAS MUESTRAS DERIVATIZADAS DE SEMILLAS DE LINO.....	58
2.3.5 CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS SEMILLAS DE LINO.....	60
2.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS .....	61
2.4.1 MEDIA O PROMEDIO .....	61
2.4.2 DESVIACIÓN ESTÁNDAR .....	62
2.4.3 PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN .....	63
2.4.3.1 PRUEBA t DE STUDENT.....	63
2.4.3.2 PRUEBA F DE FISHER .....	65
<b>CAPITULO 3.....</b>	<b>67</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
3.1 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	67
3.2 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE GRASA DE LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA Y CANADIENSE.....	75
3.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LA CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE LINO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES – FID.....	78
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE SIGNIFICACIÓN.....	88
3.4.1 PRUEBA F .....	88

3.4.2 PRUEBA $t$ PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES CON VARIANCIAS QUE NO POSEEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	89
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>91</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>91</b>
4.1 CONCLUSIONES .....	91
4.2 RECOMENDACIONES.....	92
<b>5. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>95</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>108</b>

# ÍNDICE DE TABLAS

## CAPITULO I

TABLA 1.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA DE LINO REFERIDA A 100g DE PRODUCTO. (MCKEVITH, 2005) .....	8
TABLA 1.2 CONFIGURACIÓN CIS Y TRANS .....	21
TABLA 1.3 NOMENCLATURA, DEFINICIÓN Y FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 (TRIBOLE, 2007) (DUFOUR, 2007).....	23
TABLA 1.4 NOMENCLATURA, DEFINICIÓN Y FUENTES DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6 (SOLER, 2007) .....	24
TABLA 1.5 NOMENCLATURA, DEFINICIÓN Y FUENTES DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 9 (BARTRINA, 2010).....	25

## CAPITULO II

TABLA 2.1 SISTEMA CROMATOGRÁFICO .....	39
TABLA 2.2 CONDICIONES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN DEL ESTÁNDAR SUPELCO™ 37 COMPONENT FAME MIX DE 10mg/mL EN CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> .....	40
TABLA 2.3 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS ÓPTIMAS DE OPERACIÓN PARA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3, 6 Y 9 DESARROLLADAS EN EL LABORATORIO.....	41
TABLA 2.4 TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA ÁCIDOS GRASOS BAJO CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS DE OPERACIÓN OPTIMAS DESARROLLADAS EN EL LABORATORIO.....	43

TABLA 2.5 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE TRABAJO PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	46
TABLA 2.6 MÉTODO DE REFERENCIA PARA CUANTIFICACIÓN DE GRASA TOTAL EN LA SEMILLA DE LINO .....	54
TABLA 2.7 MÉTODOS DE REFERENCIA PARA DERIVATIZACIÓN Y DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS.....	56
TABLA 2.8 DILUCIONES DE LAS MUESTRAS DERIVATIZADAS DE SEMILLA DE LINO .....	59

### **CAPITULO III**

TABLA 3.1 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AAL DETERMINADAS EL PRIMER DÍA DE LA VALIDACIÓN .....	67
TABLA 3.2 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AL DETERMINADAS EL PRIMER DÍA DE LA VALIDACIÓN .....	68
TABLA 3.3 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AO DETERMINADAS EL PRIMER DÍA DE LA VALIDACIÓN .....	68
TABLA 3.4 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AAL DETERMINADAS EN TRES DÍAS DE LA VALIDACIÓN .....	69
TABLA 3.5 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AL DETERMINADAS EN TRES DÍAS DE LA VALIDACIÓN .....	69
TABLA 3.6 ÁREAS PARA CURVAS DE CALIBRACIÓN DE AO DETERMINADAS EN TRES DÍAS DE LA VALIDACIÓN .....	70
TABLA 3.7 CONCENTRACIONES Y ÁREAS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO ALFA LINOLÉNICO .....	71

TABLA 3.8 CONCENTRACIONES Y ÁREAS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO LINOLÉICO .....	72
TABLA 3.9 CONCENTRACIONES Y ÁREAS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO OLÉICO .....	73
TABLA 3.10 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE OMEGA 3, 6 Y 9 EN LA SEMILLA DE LINO .....	74
TABLA 3.11 PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LOS PORCENTAJES DE GRASA DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE .....	76
TABLA 3.12 PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LOS PORCENTAJES DE GRASA DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA .....	77
TABLA 3.13 PORCENTAJES DE ÁCIDO GRASO ALFA LINOLÉNICO OMEGA 3 EN LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA Y CANADIENSE .....	84
TABLA 3.14 PORCENTAJES DE ÁCIDO GRASO LINOLÉICO OMEGA 6 EN LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA Y CANADIENSE.....	84
TABLA 3.15 PORCENTAJES DE ÁCIDO GRASO OLEICO OMEGA 9 EN SEMILLA DE LINO ECUATORIANA Y CANADIENSE .....	85
TABLA 3.16 VARIANZAS Y RESULTADOS DE PRUEBA F DE LOS DATOS DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS SEMILLAS DE LINO CANADIENSE Y ECUATORIANA .....	88
TABLA 3.17 RESULTADOS DE LA PRUEBA T DE STUDENT PARA DETERMINAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE DATOS .....	89

# ÍNDICE DE FIGURAS

## CAPITULO I

FIGURA 1.1 PLANTA DE LINO (GALLEGOS, 2008).....	4
FIGURA 1.2 GRÁFICO DE PRODUCCIÓN PORCENTUAL DE LA SEMILLA DE LINO A NIVEL MUNDIAL.....	7
FIGURA 1.3 SEMILLA DE LINO ( <i>Linum usitatissimum</i> ) CANADIENSE CAFÉ .....	9
FIGURA 1.4 COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL ACEITE DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE (MORRIS, 2007).....	10
FIGURA 1.5 SEMILLA DE LINO ( <i>Linum usitatissimum</i> ) ECUATORIANA .....	11
FIGURA 1.6 CLASIFICACIÓN CONCEPTUAL DE LOS LÍPIDOS (RUIZ, 2011) ....	17
FIGURA 1.7 ESTRUCTURA DE UN TRIGLICÉRIDO (FORNAGUERA, 2007).....	18
FIGURA 1.8 CLASIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS (CANO, 2008) .....	20
FIGURA 1.9 ESTRUCTURA DEL ÁCIDO ALFA LINOLÉNICO OMEGA 3 .....	23
FIGURA 1.10 ESTRUCTURA DEL ÁCIDO LINOLÉICO OMEGA 6.....	25
FIGURA 1.11 ESTRUCTURA DEL ÁCIDO OLÉICO OMEGA 9 .....	26
FIGURA 1.12 EQUIPO SOXHLET (GUARNIZO ET AL., 2009).....	27
FIGURA 1.13 COMPONENTES DEL EQUIPO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS, 2008) .....	30
FIGURA 1.14 REACCIÓN DE TRANSESTERIFICACIÓN PARA FORMACIÓN DE ESTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS (MONTERO ET AL., 2003) .....	34
FIGURA 1.15 CUANTIFICACIÓN EN LA CURVA DE CALIBRACIÓN POR INTERPOLACIÓN (HARRIS, 2003).....	35

## CAPITULO II

FIGURA 2.1 CROMATOGRAMA DE ESTÁNDAR BAJO CONDICIONES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN.....	42
--	----

## CAPITULO III

FIGURA 3.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO ALFA LINOLÉNICO.....	71
FIGURA 3.2 CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO LINOLÉICO .....	72
FIGURA 3.3 CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO OLÉICO .....	73
FIGURA 3.4 CROMATOGRAMA DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000.....	79
FIGURA 3.5 REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE LA MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000.....	79
FIGURA 3.6 CROMATOGRAMA DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000.....	80
FIGURA 3.7 REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000.....	80
FIGURA 3.8 CROMATOGRAMA DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400.....	81
FIGURA 3.9 REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400 .....	81
FIGURA 3.10 CROMATOGRAMA DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400.....	82

FIGURA 3.11 REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400.....	82
FIGURA 3.12 COMPARACIÓN EN BARRAS DE PORCENTAJES DE ÁCIDOS GRASOS OMEGAS DE LOS DOS TIPOS DE SEMILLAS DE LINO.....	87

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1</b> .....	<b>109</b>
CALCULOS ADICIONALES DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3, 6 Y 9 EN SEMILLA DE LINO .....	<b>109</b>
<b>ANEXO 2</b> .....	<b>119</b>
DIAGRAMA GRÁFICO.....	<b>119</b>
<b>ANEXO 3</b> .....	<b>120</b>
CERTIFICADO DE LA VARIEDAD DE LINO CULTIVADA EN EL ECUADOR ....	<b>120</b>
<b>ANEXO 4</b> .....	<b>121</b>
ANÁLISIS TAXONÓMICO DE PLANTA DE LINO ECUATORIANA.....	<b>121</b>
<b>ANEXO 5</b> .....	<b>122</b>
CROMATOGRAMAS .....	<b>122</b>
<b>ANEXO 6</b> .....	<b>170</b>
EQUIPOS EMPLEADOS .....	<b>170</b>
<b>ANEXO 7</b> .....	<b>173</b>
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ESTANDAR SUPELCO 37 COMP. FAME MIX ....	<b>173</b>
<b>ANEXO 8</b> .....	<b>176</b>
CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA COLUMNA DEL CROMATOGRAFO DE GASES .....	<b>176</b>
<b>ANEXO 9</b> .....	<b>177</b>
TABLA ESTADÍSTICA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER .....	<b>177</b>
<b>ANEXO 10</b> .....	<b>178</b>
TABLA ESTADÍSTICA DE DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT .....	<b>178</b>

<b>ANEXO 11.....</b>	<b>179</b>
CERTIFICADO DE PROCEDENCIA DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE .....	179
<b>ANEXO 12.....</b>	<b>180</b>
CERTIFICADO DE PROCEDENCIA DE LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA	180

## RESUMEN

La presente disertación tiene como objetivo la cuantificación de los ácidos grasos alfa linolénico omega 3 (AAL), linoléico omega 6 (AL) y oléico omega 9 (AO) de la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) canadiense y ecuatoriana por cromatografía de gases y la comparación de dichos ácidos presentes en los dos tipos de semilla mediante la aplicación de la prueba t de Student. Para cumplir con este propósito se realizó un muestreo aleatorio de la semilla de lino ecuatoriana y canadiense en diferentes mercados y supermercados del norte, centro y sur de Quito. Por cada tipo de semilla se adquirieron 12 muestras de las cuales se extrajo la grasa total mediante un equipo Soxhlet, como resultado de este análisis se obtuvo en la semilla de lino canadiense un porcentaje promedio de grasa de 39% y en la semilla de lino ecuatoriana 33%. Posteriormente se esterificaron, diluyeron y analizaron los ácidos grasos presentes en las muestras por cromatografía de gases con detector FID. Los resultados obtenidos fueron que la semilla de lino canadiense posee: AAL (23,343%), AL (5,609%) y AO (3,817%) y la semilla de lino ecuatoriana contiene: AAL (22,777%), AL (6,270%) y AO (3,701%). Tras aplicar la prueba t de Student entre los valores promedio de ácidos grasos omega de la linaza ecuatoriana y canadiense, se estableció que no existen diferencias significativas entre los valores de omega 3 (AAL) y 9 (AO) de los dos tipos de semillas de lino y si existen diferencias significativas entre los valores de omega 6 (AL). Finalmente se concluye que las cantidades de omega 3 (AAL) y 9 (AO) de la semilla de lino ecuatoriana son estadísticamente iguales a la semilla extranjera, mientras que los valores de omega 6 (AL) no son estadísticamente iguales; la semilla de lino nacional contiene mayor cantidad de AL que la canadiense, razón por la cual, se considera que la semilla de lino ecuatoriana es de muy buena calidad y junto a análisis complementarios, podría llegar a ser un suplemento para la población ecuatoriana

## ABSTRACT

The main propose of this work is the quantification of linolenic omega 3 (ALA), linoleic omega 6 (LA) and oleic omega 9 (OA) fat acids in Canadian and Ecuadorian flaxseeds (*Linum usitatissimum*) by gas chromatography and the comparison of the values of these acids in both flaxseed types by applying t test. To fulfill the purpose a random sampling of the Ecuadorian and Canadian flaxseed in different markets and supermarkets in the north, center and south of Quito was made. Twelve samples were taken from each flaxseed type, in which total fat was extracted using a Soxhlet apparatus. This analysis shows that the Canadian flaxseed contains 39 % of fat and the Ecuadorian flaxseed 33%. Proceeded to the fatty acids in the fat content of the samples were esterified, diluted and analyzed by gas chromatography equipment, equipped with FID detector. This determination showed that Canadian flaxseed has: ALA (23,343%), LA (5,609%) and OA (3,817%) and Ecuadorian flaxseed has: ALA (22,777%), LA (6,270%) and OA (3,701%). After performing the t test used to compare the averages of omega fat acids from the Ecuadorian and Canadian flaxseed, it was found that, there were no significant differences between the values of omega 3 (ALA) and 9 (OA) of the two types of flaxseeds, but there were significant differences between the values of omega 6 (AL). In conclusion the amounts of omega 3 (ALA) and 9 (OA) in Ecuadorian flaxseed are statistically equal compared with the foreign flaxseed and omega 6 values are not statistically equal; national flaxseed has more amount of omega 6 (AL) than Canadian flaxseed, reason why, Ecuadorian flaxseed is considered to have a very good quality and together with complementary analysis, could achieve to be a supplement for the Ecuadorian population.

## INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos omega 3 Alfa linolénico (AAL), 6 Linoléico (AL) y 9 Oléico (AO) son ácidos grasos insaturados del grupo de los lípidos, conocidos como grasas buenas, muy importantes para el ser humano ya que cumplen un papel de equilibrio y balance en la alimentación, ofreciendo potenciales beneficios para la mantención de la salud y prevención de algunas enfermedades (García, 2012) (Herrera, 2006). En la actualidad existen varios alimentos ricos en ácidos grasos omega entre los cuales están; nueces, almendras, maní, semillas de girasol y aguacates, pescados de aguas saladas como el arenque, bacalao, sardinas y anchoas, aceite de canola, maíz, soja y semilla de lino. El presente estudio se enfoca en el análisis de la semilla de lino al ser fuente de ácidos grasos omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO) y al poseer una variedad de usos y beneficios.

La semilla de lino (*Linum usitatissimum*) es una oleaginosa de origen mediterráneo conocida alrededor del mundo por su versatilidad al ser utilizada de varias formas: molida, en semilla, como aceite industrial (secante) o comestible, como harinas y productos cosméticos y para alimentación humana o animal. En las últimas décadas ha surgido un gran interés por ella en la alimentación debido al reconocimiento de algunos de sus componentes como los lignanos, fibra soluble e insoluble y una elevada cantidad de ácidos grasos AAL, AL y AO, estos componentes en especial, han despertado el interés del consumidor, han incentivado a la industria alimenticia a utilizar la semilla de lino como ingrediente en la elaboración de pan, cereales, barras energéticas y galletas (Figuerola, 2008) (Pszczola, 2002) y han potencializado la venta de la semilla en mercados, supermercados y centros naturistas (El Hoy, 2008).

Canadá es uno de los principales países productores y exportadores de la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) que es muy cotizada mundialmente debido a su alta cantidad de ácidos grasos omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO) y sus propiedades nutricionales y beneficios (Flax Council of Canada, 2013). En el Ecuador se cultiva la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) en las provincias de la sierra especialmente Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo y Bolívar y se comercializa generalmente en mercados, supermercados y centros naturistas (Ecuador Agricultura, 2013). Actualmente no se tiene estudios suficientes sobre la calidad de la semilla de lino nacional en cuanto a cantidad de ácidos grasos omega, razón por la cual los consumidores compran la semilla de lino canadiense que si posee esta información. Con estos antecedentes y con el objetivo de determinar la calidad de la semilla de lino ecuatoriana en términos de ácidos grasos omega e incentivar la investigación y consumo de la oleaginosa nacional, en este trabajo se estudia y compara la cantidad de ácidos grasos AAL, AL y AO de la semilla de lino nacional con la semilla de lino canadiense.

El primer capítulo de esta disertación trata de las características, historia, variedades, composición química, distribución mundial, usos, beneficios, consumo de la semilla de lino nacional y extranjera, además se describe los lípidos, su importancia y clasificación, los ácidos grasos poliinsaturados entre ellos los omega y finalmente incluye información acerca de los fundamentos de la metodología de extracción de grasa por el método Soxhlet y el método de determinación y cuantificación de ácidos grasos por Cromatografía de gases con detector FID.

El segundo capítulo consta de la información experimental de la investigación, materiales, reactivos, equipos, métodos AOAC empleados, procedimientos de elaboración de curvas

de calibración, muestreo, extracción de grasa, derivatización, diluciones, tratamiento estadístico de muestras para la determinación, cuantificación y comparación de los ácidos grasos omega de la linaza nacional y extranjera.

En el tercer muestra los parámetros de validación del método, las curvas de calibración elaboradas para cada ácidos graso de interés, los resultados de grasa total y ácidos grasos omega de la semilla de lino ecuatoriana y canadiense e incluye el tratamiento estadístico, análisis y discusión de los datos.

Finalmente el cuarto capítulo incluye las conclusiones y recomendaciones finales del estudio.

# CAPÍTULO 1

## PARTE TEÓRICA

### 1.1 EL LINO Y LA SEMILLA DE LINO

#### 1.1.1 CARACTERÍSTICAS Y CRECIMIENTO DEL LINO



**Figura 1.1** Planta de lino (Gallegos, 2008)

La planta de lino (*Linum usitatissimum*) de la familia Linaceae, es un cultivo anual, de raíz fibrosa, flor azul, tiene un tallo de 70 a 130 cm que sólo se ramifica en su parte superior, su fibra tiene excelentes propiedades textiles y de su semilla se extrae el aceite de linaza de gran valor nutricional e industrial (Castillo et al., 1996).

La semilla de lino es de 4 a 6 mm de longitud, aplanada, de forma oval y con un extremo aguzado, la cubierta de la semilla es de apariencia suave y brillante y su color puede variar entre marrón oscuro y amarillo claro (Thompson, 2003).

### **1.1.2 HISTORIA**

Desde hace 5000 años A.C., la civilización humana ha consumido la semilla de lino, los egipcios llevaban dicha semilla en bolsos médicos, más tarde en la historia, Hipócrates declaró en algunos de sus escritos que la semilla de lino era usada para el alivio de dolores abdominales. Además se descubrió que la semilla formó parte de la alimentación de los griegos y romanos y fue usada como una fuente para proporcionar energía.

Durante el siglo VIII, el Rey Carlomagno expidió leyes que exigían el consumo de la semilla de lino por sus súbditos, para asegurar su buena salud. En los siglos más recientes, el uso de la semilla creció en Europa, África y ahora en América, esta semilla, junto con la soja, está comenzando a ser usada cada vez más en el mundo de nutrición (Cunnane et al., 1995).

### **1.1.3 ESPECIES DE LINO**

Las especies de *Linum* más notables son:

*Linum aquilinum*: Planta que se usa en Chile como estomática y aperitiva. *Linum catharticum*: Planta anual de Europa que posee propiedades purgantes débiles, se usa en Inglaterra, Suecia y Dinamarca. *Linum perenne*: Crece en Siberia y produce la variedad *procumbens*, conocida por producir una buena hilaza. *Linum selaginoides*: Crece como arbusto en Perú donde se le usa como aperitivo.

En la presente disertación la especie de lino que se utiliza es *Linum usitatissimum*: Planta más común y abundante que crece especialmente en Europa y América (Leclerc et al., 1867).

#### **1.1.4 CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO DE LA PLANTA DE LINO**

**Temperatura.**- El lino puede soportar una temperatura de 16 – 20°C. Según el clima se distinguen: los linos de fibra que se cultivan en climas húmedos y suaves y los linos oleaginosos que se cultivan en climas templados y cálidos.

**Suelo.**- Para el cultivo de lino se ara el suelo un mes antes de implantar el cultivo y una semana antes de la siembra, ya que debido al pequeño tamaño de la semilla se puede tener problemas de germinación en suelos compactos.

**Riego:** La planta de lino es especialmente sensible a la sequía durante los días anteriores y posteriores a la floración, por lo que requiere abundante agua (aproximadamente de 400-450 L/m<sup>2</sup>) y se recomienda diseñar un sistema de riego durante todo el ciclo.

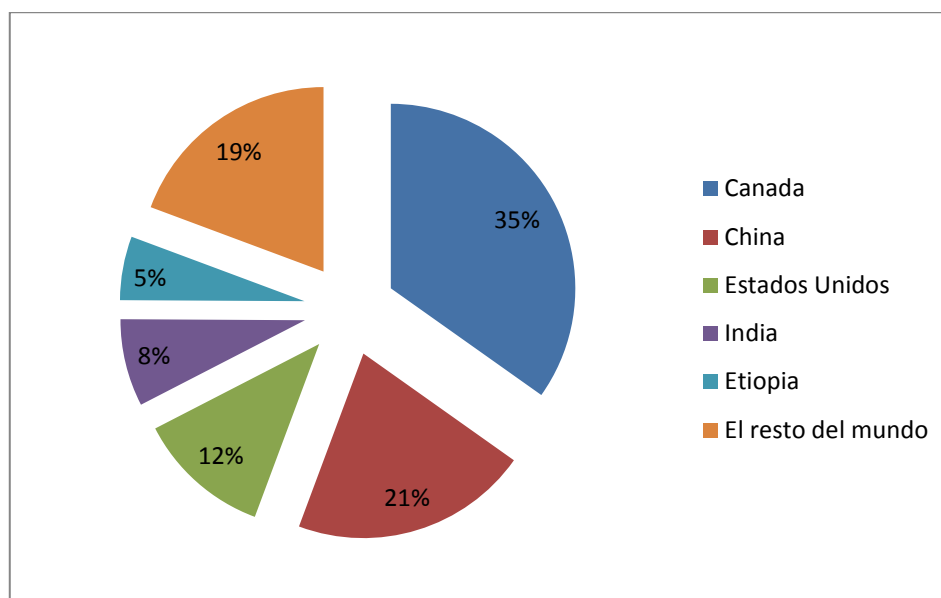
**Abono.**- Se utilizan abonos nitrogenados para un correcto desarrollo del cultivo y para obtener buenos rendimientos de fibra de lino, también se utilizan abonos fosfóricos para favorecer el rendimiento en cantidad, tanto de fibra como en la semilla de lino y potásicos para favorecer la calidad de la fibra.

**Herbicidas.**- El lino por sí solo no se defiende de las malas hierbas por esto es preciso elegir un herbicida efectivo (Gallego, 2008) (InfoAgro, 2014).

### 1.1.5 DISTRIBUCIÓN MUNDIAL

Actualmente la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) se cultiva en alrededor de 50 países, la mayoría de los cuales están en el hemisferio norte (Morris et al., 2003).

Según cifras oficiales de la Food and Agricultural Organization of United Nations (FAO), correspondientes al año 2003 - 2008, los mayores productores de la semilla de lino en el mundo son: Canadá con 791.000 toneladas producidas anualmente, seguido por China con 474.000 toneladas, Estados Unidos con 267.000 toneladas, India con 174.000 toneladas, y Etiopía con 127.000 toneladas (FAO, 2008). A continuación en el la figura 1.2 se presenta la distribución porcentual de producción de la semilla de lino.



**Figura 1.2 Gráfico de producción porcentual de la semilla de lino a nivel mundial**

### 1.1.6 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La semilla de lino (*Linum usitatissimum*) es considerada un alimento funcional debido a su alto contenido de fibra total, proteína, lignanos y perfil de ácidos grasos poliinsaturados en el cual predomina su elevado contenido de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 (Bender, 1993) (Figuerola, 2008). La composición química de la semilla de lino se encuentra detallada en la tabla 1.1 a continuación:

**Tabla 1.1 Composición química de la semilla de lino referida a 100g de producto (McKevith, 2005)**

<b>Energía (kcal/kJ)</b>			492 – 699 / 2.059
<b>Grasa (% del total de ácidos grasos)</b> 34,0 - 47,8	<b>Ácidos grasos saturados</b>	<b>Mirístico</b>	0
		<b>Palmítico</b>	1,8 – 5,3
		<b>Esteárico</b>	1,4 – 4,1
	<b>Ácidos grasos monosaturados</b>	<b>Palmitoleico</b>	0
		<b>Oléico (AO)</b>	20,1 – 27,7
	<b>Ácidos grasos poliinsaturados</b>	<b>Linoléico (AL)</b>	12,7 – 22,4
<b>Linolénico (AAL)</b>		53,3 – 57,3 (Hasta 85%) (Chen, 2001)	
<b>Proteínas (g)</b>			19,5 – 23,7
<b>Carbohidratos (g)</b>			34,3
<b>Fibra (g)</b>			25,8 – 27,9
<b>Magnesio (mg)</b>			362
<b>Calcio (mg)</b>			199

La semilla de lino además contiene: fibra dietética, de la cual una tercera parte es fibra soluble y el resto fibra insoluble, lignanos, aminoácidos como: Alanina, Arginina, Ácido aspártico, Cistina, Ácido glutámico, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina y Valina, vitaminas como: ácido ascórbico, tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido pantoténico, ácido fólico, biotina, vitamina E y K y minerales entre los que se destaca el

contenido de calcio, cobre, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, sodio y zinc (Figuerola, 2008) (Morris, 2007).

La composición de la semilla de lino en general puede variar dependiendo de la genética, el medio ambiente, el procesamiento de la semilla y el método de análisis utilizado (Flax Council of Canada, 2013).

### **1.1.7 SEMILLA DE LINO CANADIENSE**

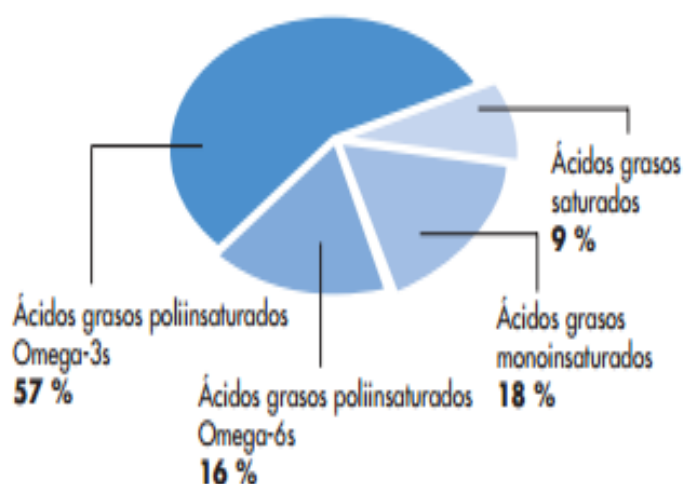
Canadá es uno de los principales países productores de lino (*Linum usitatissimum*). Las zonas de cultivo son: Alberta, Manitoba, Nueva Brunswick, Nueva Escocia, Isla del Príncipe Eduardo, Saskatchewan. La semilla de lino es una parte importante de la agricultura canadiense, razón por la cual Canadá ha creado “The Flax Council of Canada” organización conformada por los productores, transportistas y exportadores de granos de Canadá, que se enfocan en el desarrollo de mercados de la semilla de lino canadiense, su investigación, distribución de información científica y promoción.

Las semillas canadienses de lino (*Linum usitatissimum*) son pequeñas, de forma almendrada y de color café o amarillo.



**Figura 1.3 Semilla de lino (*Linum usitatissimum*) Canadiense café**

La semilla de lino canadiense café es la que más se cultiva en Canadá, contiene 41% de grasa, 20% de proteína, 28% de fibra dietética total, 7.7% de humedad y 3.4% de ceniza, (Canadian Grain Commission, 2001) es muy cotizada a nivel mundial por su elevada cantidad de ácidos grasos que se observa en la figura 1.4 a continuación y es la semilla que se utiliza en el presente estudio.



**Figura 1.4** Composición de ácidos grasos en el aceite de semilla de lino canadiense

(Morris, 2007)

### 1.1.8 SEMILLA DE LINO ECUATORIANA

Según la base de datos y la revisión de la colección del Herbario QCA de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE, en el Ecuador continental se cultiva la semilla de lino de la especie *Linum usitatissimum* (Anexo 3) en las provincias de la sierra especialmente Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo

y Bolívar (Ecuador Agricultura, 2013). Es una semilla de color café cobrizo, aplanada y alargada de la cual no se tiene información nutricional.



**Figura 1.5 Semilla de lino (*Linum usitatissimum*) Ecuatoriana**

### **1.1.9 USOS Y BENEFICIOS ACTUALES DE LA SEMILLA DE LINO**

#### **La semilla de lino como secante:**

El aceite de la semilla de lino obtenido por prensado en frío es refinado, limpiado, desflemado, empaldecido, filtrado y añadido a materiales secantes para ser usado en la industria de barnices. Además el aceite de la semilla de lino se usa como material de partida para la confección de pinturas (Laubsch, 1979).

#### **La semilla de lino como producto cosmético:**

Al hervir las semillas de lino en agua se produce un gel de consistencia viscosa, el cual aprovecha la industria para preparar shampoo, bálsamos suavizantes y geles de fijación para cabello dañado y también ocupa la industria cosmética para producir cremas y mascarillas que mejoran el estado general de la piel (Morales, 2004).

### **La semilla de lino como alimento animal:**

La semilla de lino se usa como alimento para los animales y existen varios estudios al respecto: En USA se demostró que el alimentar al ganado para producción de carne de res con una ración de alimento que contenga semillas de lino, incrementa el contenido de ácido alfa linolénico (AAL) y ácido linoléico conjugado (ALC) en la carne de res (Morris, 2007). En Perú se confirmó que las vacas alimentadas con semillas de la planta de lino (*Linum usitatissimum*), producen lácteos más nutritivos, enriquecidos con ácidos grasos omega 3 (AAL) y menos grasa saturada (Bobe, 2013). En Colombia se realizó un estudio con el objetivo de enriquecer los huevos de gallina con ácidos grasos omega 3 (AAL) mediante la inclusión de semillas de lino en la dieta, en este estudio se descubrió que es posible enriquecer la yema de huevo de gallina hasta con un 10,1 % de omega 3(AAL) mediante la inclusión de un 15 % de semilla de lino en la dieta de las gallinas (Diaz et al., 2009). En el Ecuador se realizó un estudio de la inclusión de semilla de lino en la alimentación de las codornices y se descubrió que tiene un efecto positivo sobre la concentración de los ácidos grasos omega 3 (AAL) en los huevos de consumo (Toapanta, 2010). Además en Ecuador en la provincia de Cotopaxi se evaluó la factibilidad de la utilización de las semillas de lino como suplemento alimenticio en la fase de crecimiento y engorde de cuyes, estudio del cual se obtuvo resultados positivos (Centeno et al., 2012).

### **Semilla de lino como aceite de mesa:**

El aceite de la semilla de lino se extrae utilizando prensas creadas especialmente para aceites vegetales. El aceite comestible de las semillas se vende en botellas y se lo consume generalmente frio como aderezo para ensaladas (Flax Council of Canada, 2013) (Vaisey, 2003). Sin embargo los altos niveles de ácido graso alfa linolénico y en general su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, otorgan al aceite de lino la propiedad de ser

inestable y susceptible a la oxidación, debido a ello su uso como aceite comestible es limitado (Devinar et al., 2010). Entre los estudios científicos del aceite de semillas de lino está: En USA se comparó el efecto de consumo de aceite de nuez de nogal con aceite de lino en hombres y mujeres con hipercolesterolemia moderada, el estudio reveló que el consumo de aceite de las semillas de lino tiene efectos positivos y reduce el colesterol (Zhao, 2007).

### **La semilla de lino en la industria alimenticia:**

La industria panificadora utiliza las semillas de lino como ingrediente en panes integrales y galletas, sin embargo se recomienda moler las semillas de lino primero para mejorar su digestión y así obtener una harina la cual se usa en diversos tipos de alimentos como: productos de repostería, cereales de desayuno, “snack”, barras nutritivas, bebidas nutricionales, helados y postres (Pszczola, 2002). Existen varios estudios al respecto: En México se realizó un estudio del valor nutritivo de panes integrales con Chía y semilla de lino y se encontró que los panes poseen propiedades funcionales por el alto contenido de fibra, ácidos grasos omega y ligera capacidad antioxidante. (Bautista et al., 2008). En Chile se realizó una caracterización funcional de harinas de semilla de lino y su uso en barras de cereales y se obtuvo que las barras elaboradas con harina de semillas de lino se podrían considerar como alimentos funcionales al tener una mejora en su composición nutricional y un alto aporte de fibra (Olavarría, 2012). En Honduras consumen la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) en una bebida tradicional de la cual se realizó una evaluación preliminar y se obtuvo resultados positivos (Benavides, 2004). En Perú se descubrió efectos positivos en lactantes tras consumir papillas de harina de semilla de lino (Macedo, 2007). En Chile, consideran a la oleaginosa como un alimento nutritivo y beneficioso para la salud, por lo cual se desarrolló una formulación de mousse de semilla de lino (*Linum usitatissimum*)

(Hazbún et al., 2006). En el Ecuador se desarrolló un yogurt tipo II con la utilización del gel de las semillas de lino como estabilizante natural y se evaluó su calidad, de este estudio se obtuvo resultados satisfactorios (Salagata, 2010).

### **La semilla de lino como medicina alternativa**

En el Ecuador la semilla de lino se consume como ingrediente en los frescos, brebajes medicinales tradicionales, que generalmente se venden en carritos ambulantes o en mercados de las ciudades. Son famosos al tener grandes propiedades medicinales para el cuerpo (Pazos, 2002). En las tiendas naturistas del Ecuador se vende la semilla mezclada con noni y espirulina o con noni, stevia y pitahaya, se recomienda consumir una cucharada en agua, jugo o yogurt. Esta mezcla es muy conocida por poseer una gran cantidad de beneficios. El aceite de la semilla de lino también se consume en cápsulas y es vendido como complemento alimenticio (Flax Council of Canada, 2013).

Internacionalmente se ha realizado varios estudios de la semilla de lino para comprobar sus beneficios: En Brasil se ha comprobado mediante un estudio que la semilla de lino contribuye como tratamiento de la obesidad a largo plazo tras cirugía bariátrica (método para la pérdida de peso), debido al control de las sensaciones de apetito y saciedad (Menegati et al., 2012). En USA se realizó un estudio que descubrió efectos cardioprotectores de la semilla de lino en conejos que fueron alimentados con la oleaginosa (Ander, 2004). En Colombia se realizó un estudio del efecto del consumo de la semilla de lino en el perfil lipídico, el control del cáncer y como terapia de reemplazo hormonal en la menopausia por medio de una revisión sistemática de ensayos clínicos aleatorizados y se determinó que el consumo de la semilla genera pequeños cambios en la concentración de los lípidos sanguíneos, mejora la sintomatología en mujeres menopáusicas, promueve la

reducción de índices de proliferación tumoral y el aumento de apoptosis en cáncer de mama y próstata y en definitiva la evidencia favorece a la semilla de lino como una alternativa en la terapia coadyuvante del tratamiento de cáncer de mama y de próstata, y en la reducción de síntomas durante la menopausia (Alzate, 2010).

#### **1.1.10 CONSUMO DE LA SEMILLA DE LINO**

La semilla de lino debe ser consumida con moderación por la elevada cantidad de fibra que posee; su ingesta excesiva puede afectar a la digestión, por lo que se recomienda consumir 5 g de aceite de la semilla u 8 g de semilla de lino molida diariamente, que proporciona la cantidad necesaria de AAL para satisfacer las necesidades alimenticias y obtener los beneficios de la oleaginosa (Flax Council of Canada, 2013).

La semilla de lino contiene algunos compuestos antinutricionales como es el caso de muchas otras plantas; el ácido fítico y los glucósidos cianogénéticos son los principales.

El ácido fítico es un poderoso agente quelante de cationes y acomplejador de proteínas y almidón, está en cantidades que varían entre 0,8 y 1,5 g/100g del peso seco de la semilla dependiendo de cada variedad y las condiciones de crecimiento de la planta; estos valores no son significativos al ser semejantes a los encontrados en maní, fréjol y soya y son bastante inferiores a los de otras oleaginosas (2 a 5,2 g/ 100g). Los glucósidos cianogénéticos tienen la capacidad de liberar cianuro por hidrólisis ácida o enzimática que ocurre cuando la semilla se daña. El contenido de glucósidos cianogénéticos en la semilla de lino varía con la variedad, condiciones ambientales y la edad de la semilla, reduciéndose el contenido desde 5,0 g/100g en las semilla inmaduras a 0,1 g/100g en las maduras. Para reducir el contenido de este antinutriente se recomienda consumir la semilla tostada,

horneada o expuesta a algún tratamiento térmico, con el cual se ha comprobado que se reduce la aparición del antinutriente en un 83 – 100%. (Figuerola et al., 2008)

## **1.2 LÍPIDOS**

Los lípidos conocidos normalmente como grasas, están presentes en todo momento en nuestras vidas. Los utilizamos en nuestra alimentación, en nuestro aseo e higiene, en la conservación de nuestra salud y en innumerables productos y objetos que utilizamos y consumimos diariamente (Valenzuela, 2012).

### **1.2.1 PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS**

Los lípidos conforman un grupo grande y heterogéneo de sustancias de origen biológico. Son insolubles en agua pero fácilmente solubles en disolventes orgánicos poco polares como el metanol, la acetona, el cloroformo y el benceno (Peña et al., 2004). Estructuralmente se caracterizan por poseer cadenas relativamente largas, con composición predominante de carbono e hidrogeno y por una relativa falta de oxígeno, lo que les confiere su carácter hidrofóbico.

### **1.2.2 FUNCIONES**

Los lípidos poseen varias funciones entre las cuales están: forman la estructura de membranas biológicas; son la reserva energética más significativa de los seres humanos y animales; sirven como aislantes contra traumatismos y cambios de temperatura; actúan en micro cantidades como agentes activadores o reguladores del metabolismo y desempeñan funciones especiales en el organismo de los seres vivos al actuar como hormonas, mediadores y segundos mensajeros en importantes funciones biológicas (Gutiérrez, 2000).

### 1.2.3 CLASIFICACIÓN

Los lípidos se clasifican en saponificables e insaponificables.

Los lípidos saponificables son ésteres de un alcohol y uno o más ácidos grasos y se caracterizan por sufrir saponificación, que consiste en la hidrólisis básica de un éster originando una sal del ácido carboxílico (jabón) y un alcohol. En función del tipo de alcohol, estos lípidos se clasifican en acilglicéridos o grasas simples, céridos, fosfolípidos y glucolípidos.

Los lípidos insaponificables son aquellos que no tienen ácidos grasos en su composición, tampoco son ésteres y, por tanto, no sufren saponificaciones. Entre estos lípidos destacan los terpenos, las prostaglandinas y los esteroides (Sánchez, 2004). La clasificación completa se presenta en la figura 1.6 a continuación.

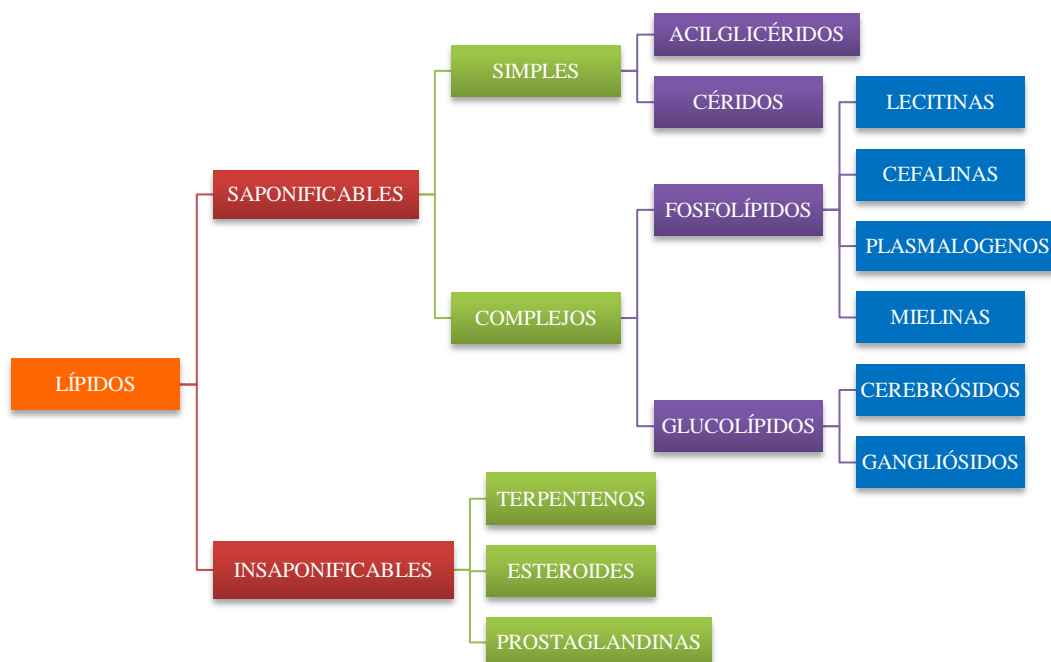


Figura 1.6 Clasificación conceptual de los lípidos (Ruiz, 2011)



membranas de nuestras células y según su composición deriva su funcionalidad (FAO, 2008).

Químicamente son cadenas lineales de hidrocarburos con un grupo carboxilo (COOH) en un extremo y un metilo (CH<sub>3</sub>) en el otro, pueden tener o no dobles enlaces (insaturaciones) entre sus carbonos. Poseen número par de átomos de carbono y son compuestos insolubles en agua y muy solubles en solventes orgánicos apolares.

#### **1.4.1 PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS**

Las propiedades químicas de los ácidos grasos derivan por una parte, de la coexistencia de la presencia de un grupo carboxilo (hidrofílico) y por otra parte de la existencia de una cadena hidrocarbonada (hidrofóbica) en la misma molécula, que convierte a los ácidos grasos en moléculas débilmente anfipáticas. El carácter anfipático es tanto mayor cuanto menor es la longitud de la cadena hidrocarbonada. Además, como ácidos carboxílicos que son, los ácidos grasos reaccionan con bases para formar sales iónicas. La solubilidad en agua de dichos ácidos decrece a medida que aumenta la longitud de la cadena. El punto de fusión está condicionado por la longitud y el grado de insaturación de la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos. Los ácidos grasos insaturados son muy susceptibles a la oxidación, la cual aumenta con el número de dobles enlaces (Calvo, 2004).

Entre las propiedades físicas de los ácidos grasos se destaca que la presencia de dobles enlaces en los ácidos grasos aumentan la fluidez y hace a la grasa líquida, mientras que la ausencia de dobles enlaces y la presencia de simples enlaces en los ácidos grasos, disminuye la fluidez y hace que la grasa sea sólida.

## 1.4.2 FUNCIONES

En el metabolismo, los ácidos grasos son punto de partida para la síntesis de sustancias con acción similar a las hormonas, que se manifiestan potenciando o inhibiendo procesos inflamatorios. Además, de la composición en cantidad y tipo de ácidos grasos, dependen los niveles de colesterol y triglicéridos del suero humano, así como la fluidez de la membrana de los glóbulos rojos (Gil, 2010).

## 1.4.3 CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

Los ácidos grasos se subdividen en tres grupos según el grado de insaturación: Los ácidos grasos saturados que no poseen dobles enlaces, los ácidos grasos monoinsaturados que poseen un doble enlace y los poliinsaturados que se caracterizan por tener dos o más dobles enlaces en su estructura. Estos ácidos grasos por regla general poseen un número par de átomos de carbono y estructuras no ramificadas. Los ácidos más comunes de estos grupos se encuentran en la figura 1.8.



Figura 1.8 Clasificación de los ácidos grasos (Cano, 2008)

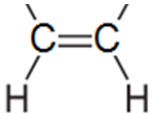
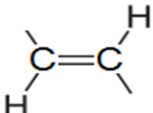
Los ácidos grasos saturados se clasifican según su longitud de cadena, pueden ser:

- Ácidos grasos de cadena corta: 2 – 4 carbonos
- Ácidos grasos de cadena media: 6 – 12 carbonos
- Ácidos grasos de cadena larga: 14 – 22 carbonos
- Ácidos grasos de cadena muy larga: 24 o más carbonos (FAO, 2008)

Los ácidos grasos poliinsaturados también se clasifican según el lugar que ocupa el primer doble enlace respecto al carbono omega de la estructura. Se reconocen tres tipos de ácidos grasos poliinsaturados: Ácidos grasos omega 3, omega 6 y omega 9.

Además todos los ácidos grasos con dobles enlaces naturalmente se clasifican según su estructura en el espacio, en la cual la presencia de un doble enlace ofrece la posibilidad estructural de que los hidrógenos en relación al doble enlace se sitúen en el mismo plano, en este caso la configuración es “cis”, y cuando los hidrógenos se sitúan en planos diferentes la configuración es “trans”, como se observa en la Tabla 1.2 (McMurry, 2012).

**Tabla 1.2 Configuración cis y trans**

	
<b>Configuración CIS</b>	<b>Configuración TRANS</b>

## 1.5 ÁCIDOS GRASOS OMEGA

Los ácidos grasos omega son nombrados usando la letra griega  $\omega$ . Son ácidos grasos insaturados que han sido clasificados como omegas debido a la posición del primer doble enlace, el cual se cuenta desde el grupo metilo ( $\text{CH}_3$ ), que es el último carbono de la cadena y es llamado carbono "omega".

Se clasifican según su interés biológico en:

- ❖ Ácidos grasos esenciales (omega 3 y omega 6) son los que no pueden ser biosintetizados en el organismo y por tanto es necesario consumirlos en la dieta para importantes funciones corporales.
- ❖ Ácidos grasos no esenciales (omega 9) son los que pueden ser sintetizados en el organismo (Velásquez, 2006).

Los ácidos grasos omega poseen una gran cantidad de beneficios entre los cuales están: promueven una piel juvenil y un cabello saludable; apoyan la función o acción adecuada de la tiroides y de las suprarrenales y de esta manera refuerzan la inmunidad; se requieren para un crecimiento y energía normal; promueven la sangre saludable, nervios y arterias y son importantes en el transporte y descomposición del colesterol y en general cumplen un papel de equilibrio y balance en la alimentación ofreciendo potenciales beneficios para la mantención de la salud y prevención de algunas enfermedades (Pitchford, 2007).

### 1.5.1 CLASIFICACIÓN

Dentro de la clasificación de ácidos grasos omegas se encuentran el omega 3, 6 y 9.

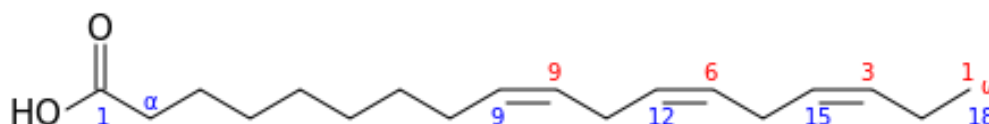
## 1.5.2 OMEGA 3

Existen tres tipos de ácidos grasos omega 3, el ácido alfa linolénico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico que se describen a continuación:

**Tabla 1.3 Nomenclatura, definición y fuentes de ácidos grasos omega 3 (Tribole, 2007) (Dufour, 2007)**

Ácido Graso	Abreviatura	Notación	Definición	Fuentes
Alfa linolénico	ALA	C18:3 ω3	Es un ácido poliinsaturado de 18 átomos de carbono y tres dobles enlaces.	Aceite de linaza, canola, maíz, soja y vegetales de hoja verde como la espinaca
Eicosapentaenoico	EPA	C20:5 ω3	Ácido graso poliinsaturado de 20 átomos de carbono y cinco dobles enlaces.	Pescados de aguas saladas: arenque, bacalao, sardinas y anchoas
Docosahexaenoico	DHA	C22:6 ω3	Ácido graso poliinsaturado de 22 átomos de carbono y seis dobles enlaces.	

El principal de este grupo es el ácido graso alfa linolénico cuyo doble enlace inicia entre el carbono 9 y el 10:



**Figura 1.9 Estructura del ácido alfa linolénico omega 3**

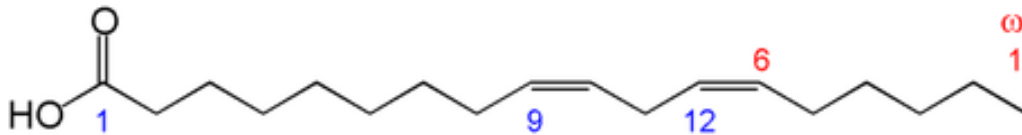
### 1.5.3 OMEGA 6

Dentro de este grupo se encuentra el ácido linoléico, gama – linoléico y araquidónico que se describen a continuación.

**Tabla 1.4 Nomenclatura, definición y fuentes de los ácidos grasos omega 6 (Soler, 2007)**

Ácido Graso	Abreviatura	Notación	Definición	Fuentes
Linoléico	AL	C18:2 ω6	Ácido graso formado por una cadena de 18 carbonos y dos dobles enlaces.	Aceite de canola, girasol, linaza, maíz, soya, granos, leguminosas; la mayoría verduras, frutas y productos de origen vegetal.
Gama-linoléico	AGL	C18:3 ω6	Ácido graso poliinsaturado de 18 átomos de carbono y tres dobles enlaces.	Aceites vegetales, leguminosas y vísceras de animales.
Araquidónico	AA	C20:4 ω6	Ácido graso poliinsaturado de 20 átomos de carbono y cuatro dobles enlaces.	Carne roja y blanca de origen animal, productos lácteos, aceite de soja, de maíz, girasol, huevos, cacahuates y la alga marina nori.

El principal de este grupo es el ácido graso linoléico el cual posee su primer doble enlace entre carbono 9 y 10:



**Figura 1.10 Estructura del ácido linoléico omega 6**

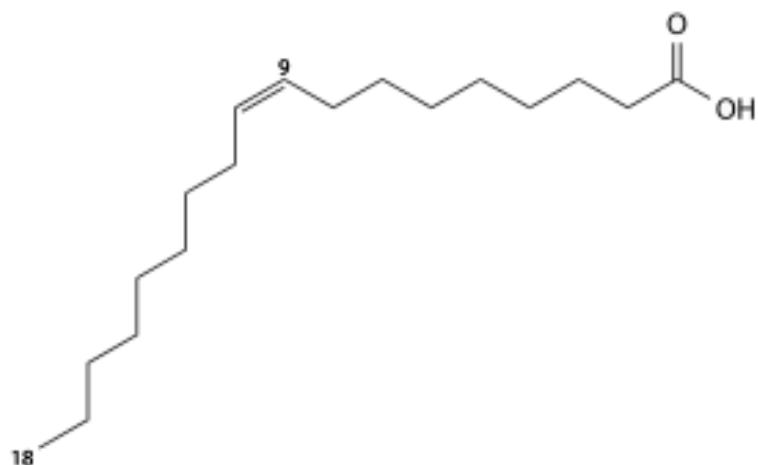
#### 1.5.4 OMEGA 9

Es un ácido graso monoinsaturado no esencial clasificado como omega 9. Los ácidos grasos omega 9 principales son el ácido oléico y erúxico que se describen en la siguiente tabla.

**Tabla 1.5 Nomenclatura, definición y fuentes de los ácidos grasos omega 9 (Bartrina, 2010)**

Ácido Graso	Abreviatura	Notación	Definición	Fuente
Oléico	AO	C18:1 ω9	Ácido graso formado por una cadena de 18 carbonos y un doble enlace.	Grasas vegetales y animales, aceite de oliva, girasol, canola y linaza, nueces, almendras, maní, semillas de girasol y aguacates.
Erúxico	AE	C22:1 ω9	Ácido Graso formado por una cadena de 22 carbonos y un doble enlace	Canola y semillas de mostaza

El ácido principal de este grupo es el ácido graso oléico el cual posee el doble enlace entre el carbono 9 y 10:



**Figura 1.11 Estructura del ácido oléico omega 9**

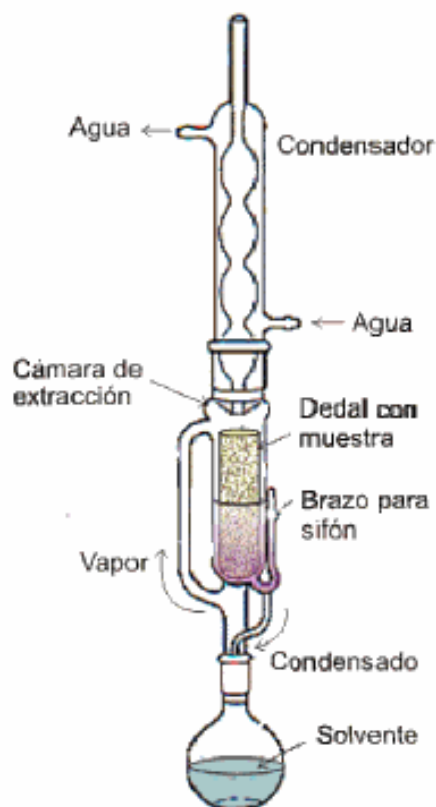
## **1.6 EXTRACCIÓN DE GRASA**

La extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio. Se define como la acción de separar una fracción específica de una muestra dejando el resto lo más integro posible. Existen tres tipos de extracción: 1) Extracción Sólido – Líquido 2) Extracción líquido – Líquido y 3) Extracción Gas – Líquido (Lamarque et al., 2008).

### **1.6.1 MÉTODO SOXHLET**

Es el método de extracción continuo sólido - líquido más antiguo para la extracción de compuestos orgánicos en matrices sólidas. Desarrollado en 1879, sigue siendo hoy en día, una técnica aceptada que se basa en el reparto selectivo del soluto (grasa) entre dos fases no miscibles: una acuosa (muestra) y una orgánica (solvente).

El equipo Soxhlet posee varias partes que se detallan a continuación.



**Figura 1.12 Equipo Soxhlet (Guarnizo et al., 2009)**

Experimentalmente la extracción consiste en colocar la muestra sólida a extraer, previamente molida y pesada, en un cartucho de celulosa que se introduce en una cámara de extracción conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. El disolvente de bajo punto de ebullición, (éter dietílico, éter de petróleo ó n-hexano) contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre la muestra. El solvente caliente empieza a llenar el dedal y extrae el compuesto deseado a partir del material vegetal, una vez que el dedal se llena con solvente, el brazo de la derecha del sistema actúa como un sifón y el solvente, el cual contiene el compuesto deseado disuelto, regresa al balón. El proceso de vaporización, condensación, extracción y evacuación se repite varias veces, y al final el extracto graso se

concentra en el balón el cual es pesado y su contenido es calculado gravimétricamente (Lamarque et al., 2008).

Las ventajas más importantes de la extracción Soxhlet son el contacto continuo de la muestra con una porción fresca de disolvente, simplicidad, bajo costo de adquisición y la posibilidad de procesar grandes cantidades de muestra. Dentro de sus limitantes están: El tiempo necesario para la extracción y los volúmenes elevados de disolvente.

El éxito de la extracción depende del pre tratamiento de la muestra que generalmente comprende la adecuada fragmentación de la muestra la cual debe hacerse de tal manera que haya suficiente superficie de contacto entre la muestra y el solvente y la selección del solvente el cual debe ser de preferencia no polar, con bajo punto de ebullición, con alta pureza, fácil recuperación, volatilidad media y baja toxicidad (Verdini, 2013).

## **1.7 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

Actualmente los equipos técnicos más empleados para la determinación de ácidos grasos en grasas y aceites son:

- Espectroscopia infrarroja: No demanda el uso de disolventes, actualmente con softwares estadísticos se puede manipular fácilmente la información espectral y se puede realizar calibraciones multivariantes, ofrece la posibilidad de remplazar métodos tradicionales ya que es una técnica rápida y no destructiva sin embargo es muy costosa.
- Cromatografía de gases:

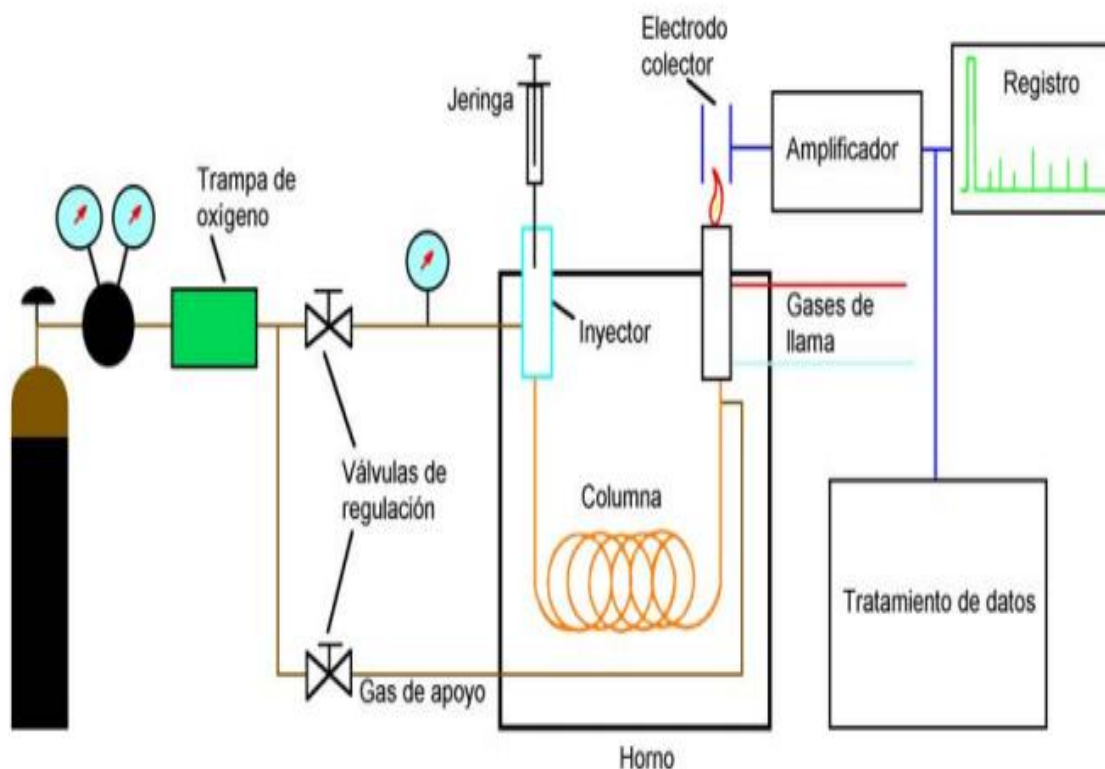
- Existen dos métodos oficiales uno para grasas y aceites que emplea una columna capilar y otro para margarinas que usa una columna empacada; en ambos métodos la cromatografía de gases esta acoplada a un detector de ionización de llama FID, de los dos métodos el más utilizado es el de cromatografía de gases con columna capilar acoplado a un detector de ionización de llama, se caracteriza por ser un método versátil para determinación de compuestos orgánicos incluyendo ácidos grasos, además es confiable, sensible, robusto, relativamente de bajo costo en comparación a otros métodos y fácil de adquirir razón por la cual es el método seleccionado para realizar el presente estudio.
- Cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas: Este equipo es conveniente para la determinación de posición de los dobles enlaces sin embargo es un método muy costoso en términos de adquisición y mantenimiento de equipos (Hernández, 2010).

### **1.7.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID)**

La cromatografía de gases es un equipo de separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. Existen dos tipos de cromatografía de gases: La cromatografía gas – sólido y la cromatografía gas – líquido, la más común es la cromatografía gas – líquido la cual es una técnica de separación que tiene como objetivo separar las mezclas de muestras complejas en fase gaseosa.

### 1.7.1.1 COMPONENTES DEL CROMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID)

El cromatógrafo de gases tiene los siguientes componentes:



**Figura 1.13 Componentes del equipo de cromatografía de gases (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2008)**

**Gas portador:** Es un gas de elevada pureza y naturaleza inerte frente al material de la columna y los compuestos de la muestra, que transporta la muestra a lo largo del sistema cromatográfico.

**Inyector:** Los dispositivos de inyección de muestras para cromatografía de gases vaporizan la muestra a analizar y la incorporan a la corriente del gas portador que se dirige hacia la columna.

**Columna:** En cromatografía la columna es el elemento auténtico de separación de los componentes de la muestra. Son tubos normalmente de vidrio con diferentes diámetros y materiales, en cuya pared se dispone la fase estacionaria que es una sustancia en la cual ocurre la separación de los componentes de la muestra por interacciones específicas. Se distinguen columnas empaquetadas y capilares, siendo las últimas las más usadas.

**Horno:** Mantiene la temperatura de la columna con gran precisión.

**Detector:** Es un dispositivo que revela la presencia de los componentes de la muestra a la salida de la columna cromatográfica y ofrece, al mismo tiempo, una señal proporcional a la cantidad de sustancia que pasa por él. Existen varios tipos de detectores como el detector de conductividad térmica, de ionización de llama, captura de electrones, fotometría de llama y espectroscopía de masas. Para su selección se toma en cuenta la naturaleza de la muestra a analizar, sensibilidad, linealidad, ruido y límite de detección. En este estudio se ha empleado el detector de ionización de llama FID, es un quemador de hidrógeno/oxígeno, donde se mezcla el gas portador y analito con hidrógeno, este gas mezclado se enciende mediante una chispa eléctrica, produciéndose una llama de alta temperatura. La mayoría de compuestos orgánicos al someterse a altas temperaturas pirrolizan. El detector responde virtualmente a todos los compuestos que pueden pirrolizarse, produciendo una señal la cual es procesada por un sistema integrador de adquisición de datos, que permite la visualización de los datos mediante una computadora

y es proporcional a la cantidad del compuesto presente, esta información se presenta en un cromatograma donde cada pico o grupo de picos pertenecientes a los compuestos separados, es identificado por comparación con sus respectivos tiempos de retención y por correspondencia visual con un cromatograma estándar. Algunas ventajas del detector FID son: buena sensibilidad, amplio intervalo lineal de respuesta, sencillez en su manejo, robustez, una excelente adaptabilidad a la mayoría de los tamaños de las columnas, además posee bajo ruido de fondo. Una desventaja del detector es que se trata de un detector destructivo de la muestra (Skoog et al., 2008).

#### **1.7.1.2 FUNCIONAMIENTO DEL CROMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID)**

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases - FID, se inyecta una pequeña cantidad de muestra que se vaporiza y es arrastrada por una corriente de un gas inerte a elevada temperatura, esta corriente de gas atraviesa la columna cromatográfica en la cual quedan retenidos, por medio de un mecanismo de partición o adsorción, algunos componentes de la muestra que son afines a la naturaleza de la fase estacionaria y los que no son afines permanecen en la fase móvil y son los que se detectan primero mediante un detector que envía una señal que se refleja en forma de picos en una gráfica que relaciona voltaje o señal eléctrica vs tiempo de retención, cada pico correspondiente a un compuesto de la muestra que se identifica observando el tiempo de retención que es el tiempo que ha quedado retenido el analito en la columna y comparando el tiempo de retención con los tiempos de retención obtenidos con estándares en el mismo cromatógrafo (Cases, 2007).

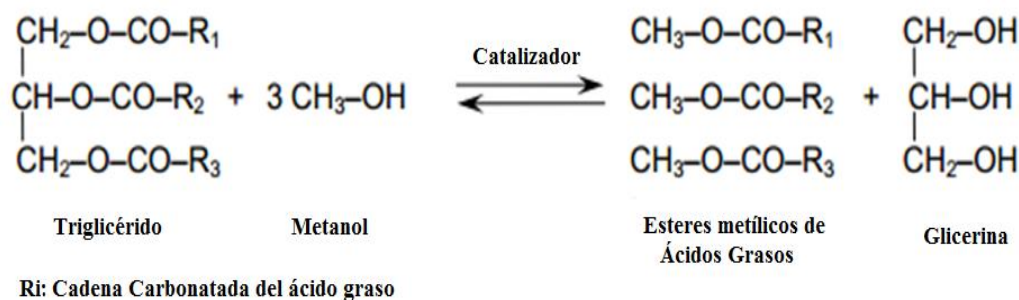
Una separación óptima depende de la selección correcta de la columna cromatográfica, del constante flujo del gas portador en el equipo, la introducción adecuada de la muestra, la

mantención de una presión estable, la mantención de una temperatura correcta en cada compartimiento del equipo, la detección adecuada de los tiempos de retención de cada componente separado de la muestra y la disposición de un detector de amplio espectro al fin de la separación (Quirós, 2006).

### **1.7.1.3 DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS PARA CUANTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA CON IONIZACIÓN DE LLAMA (FID)**

La derivatización es un proceso preparativo de muestra que se realiza para mejorar las características de detección del analito. En el caso de la cromatografía de gases se derivatiza para obtener especies más volátiles y no tener que usar temperaturas demasiado altas que puedan descomponer los analitos en el equipo.

Al momento de elegir el reactivo derivatizante y por tanto las condiciones de reacción se da importancia principalmente al grupo funcional de la molécula y la presencia de otros grupos funcionales o lábiles, en el caso de los ácidos grasos se considera que en la naturaleza se encuentran principalmente en la forma de triglicéridos (Figura 1.7) que pueden ser hidrolizados a ácidos grasos libres, y posteriormente metilados para formar los metilesteres de ácido graso (las siglas son FAMES: Fatty Acid Methyl Ester), para el efecto se utiliza la transesterificación como método de derivatización, en esta reacción una molécula de triglicérido reacciona con un alcohol, generalmente ligero como el metanol, bajo la acción de un catalizador como el hidróxido de sodio o potasio, para formar una mezcla de esteres de ácidos grasos y glicerina, esta reacción se observa en la figura 1.14 a continuación (Montero et al., 2003).



**Figura 1.14** Reacción de transesterificación para formación de esteres metílicos de ácidos grasos (Montero et al., 2003)

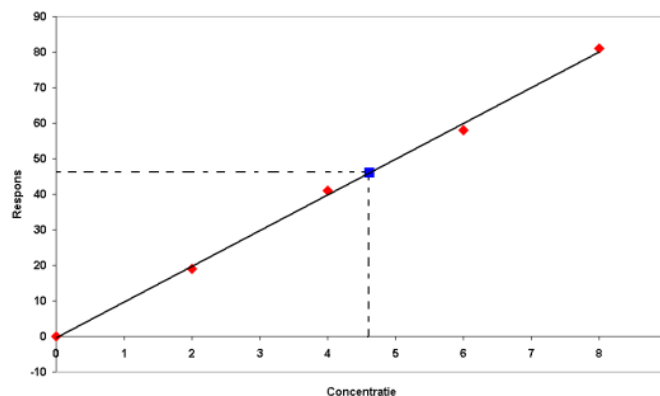
#### 1.7.1.4 CUALIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

**Determinaciones cualitativas:** Se toma en consideración los datos de tiempos de retención para caracterizar o identificar la muestra.

**Determinaciones cuantitativas:** En cromatografía de columna la señal analógica generada por el detector se registra en forma de picos cromatográficos. El área bajo estos picos puede integrarse y relacionarse con la composición de muestras desconocidas. Existen tres métodos principales de cuantificación:

- **Normalización de área:** Este método consiste en medir el área bajo cada pico cromatográfico individual, sumando todas éstas áreas de los picos se obtiene el área total calculada. El porcentaje en volumen de los componentes individuales se obtiene multiplicando el área calculada individual por 100 y luego dividiéndola para el área total calculada.

- **Patrón interno:** Se preparan estándares que contienen los componentes de la muestra a analizar. A cada uno de ellos se añade una cantidad conocida del llamado patrón interno. Como la cantidad de patrón interno añadida a la muestra problema es conocida puede calcularse la cantidad desconocida de componente.
- **Calibración con estándares externos:** Este método es el utilizado en el presente estudio y consiste en preparar 4 ó 5 soluciones estándar de los componentes de interés a concentraciones conocidas y crecientes del analito y además uniformemente distribuidas a lo largo del intervalo seleccionado. Ya preparados los estándares se inyectan en el cromatógrafo. Para cada componente presente en los estándares se obtiene una gráfica llamada curva de calibración la cual relaciona el área del pico en función de la cantidad de componente (concentraciones conocidas de los estándares). La cuantificación del analito se realiza por interpolación.



**Figura 1.15 Cuantificación en la curva de calibración por interpolación (Harris, 2003)**

Usando la ecuación de la línea recta obtenida para la calibración que se observa a continuación.

$$y = mx + b \quad (1.1)$$

Donde  $m$  es la pendiente de la recta,  $y$  es la respuesta del detector,  $b$  es la ordenada al origen y  $x$  es la concentración desconocida que se despeja para determinar la concentración del analito (Yagües, 2008).

## CAPÍTULO 2

### PARTE EXPERIMENTAL

Para la determinación y cuantificación de los ácidos grasos omega 3, 6 y 9 (alfa linolénico AAL, linoléico AL y oléico AO) en la linaza ecuatoriana y canadiense, en primera instancia se desarrolló y estandarizó el método para determinar ácidos grasos, posteriormente se elaboró y se validó las curvas de calibración para cada analito, luego se procedió a realizar el tratamiento de la muestra que comprende: el muestreo de las linazas, la extracción de grasa por el método Soxhlet, la derivatización, la preparación de diluciones, la cuantificación de las muestras de linaza en el equipo de cromatografía de gases – FID por interpolación en las curvas de calibración y finalmente se efectuó el tratamiento estadístico correspondiente.

#### **2.1 DESARROLLO Y ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES-FID**

El desarrollo de las condiciones cromatográficas del equipo generalmente se realiza utilizando como referencia las condiciones cromatográficas de certificados estandarizados que indiquen las condiciones adecuadas de determinación de analitos. El desarrollo de las condiciones cromatográficas va de la mano con la estandarización u optimización del método cromatográfico, que es la adecuación, ajuste y evaluación de diferentes condiciones de operación con el fin de determinar un conjunto de condiciones óptimas con

las que se obtenga la mejor reproducibilidad y respuesta para el analito a analizar. (Quirós, 2006)

### **Equipos**

- Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific (GC Focus Series-FID) / modelo: GC Focus Series / Serie: 10901019 y un automuestreador serie 300

### **Reactivos**

- n-hexano (grado HPLC)
- Estándar Supelco<sup>TM</sup> 37 Component FAME Mix de 10mg/mL en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

### **Materiales**

- 8 Viales ámbar con tapa rosca Agilent Technologies 2ml (5182-0716)
- Balones aforados de 1ml, 5ml, 10ml

### **Procedimiento**

El equipo utilizado para el desarrollo de este estudio es un Cromatógrafo de gases Thermo Scientific equipado con un detector de ionización de llama (FID) modelo: GC Focus Series / Serie: 10901019 y un automuestreador serie 300. El cromatógrafo de gases está provisto de una columna polar específica para la separación de ácidos grasos y cuenta con un programa de Buenas Prácticas de Laboratorio, el cual garantiza un manejo transparente

y confiable de los resultados mediante un sistema que evita modificaciones de datos. Las especificaciones del equipo se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 2.1 Sistema cromatográfico**

<b>Cromatógrafo</b>	Thermo Scientific 10901019 GC Focus	
<b>Detector</b>	FID Ionización de llama	
<b>Muestreador</b>	Triplus sampler 300	
<b>Liner</b>	Split	
<b>Gas portador</b>	Helio puro (Grado 5)	
<b>Flujo del gas portador</b>	1.0mL/min	
<b>Columna</b>	<b>Tipo</b>	Capilar TG – Polar Thermo Scientific 1009842
	<b>Material</b>	Sílice fundida reforzada con recubrimiento protector de poliimida
	<b>Longitud</b>	105 m
	<b>Diámetro</b>	0,25 mm
	<b>Espesor</b>	0,2 µm
	<b>Fase Estacionaria</b>	90% Cianopropilfenil 10% Fenilcianopropil Polisiloxano

Como punto de partida para desarrollar el método para determinar y cuantificar ácidos grasos, se adoptaron las condiciones de operación recomendadas por el fabricante del estándar Supelco™ 37 Component FAME Mix que contiene un coctel de 37 ácidos grasos que va desde C4:0 a C22:6n3 con concentración total de 10mg/mL en cloruro de metileno (Anexo 7), a partir de este estándar se preparó una solución de 1mg/mL en n-hexano grado HPLC, se inyectó la solución y se analizó bajo las condiciones que se encuentran detalladas a continuación.

**Tabla 2.2 Condiciones óptimas de operación del estándar Supelco™ 37 Component FAME Mix de 10mg/mL en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**

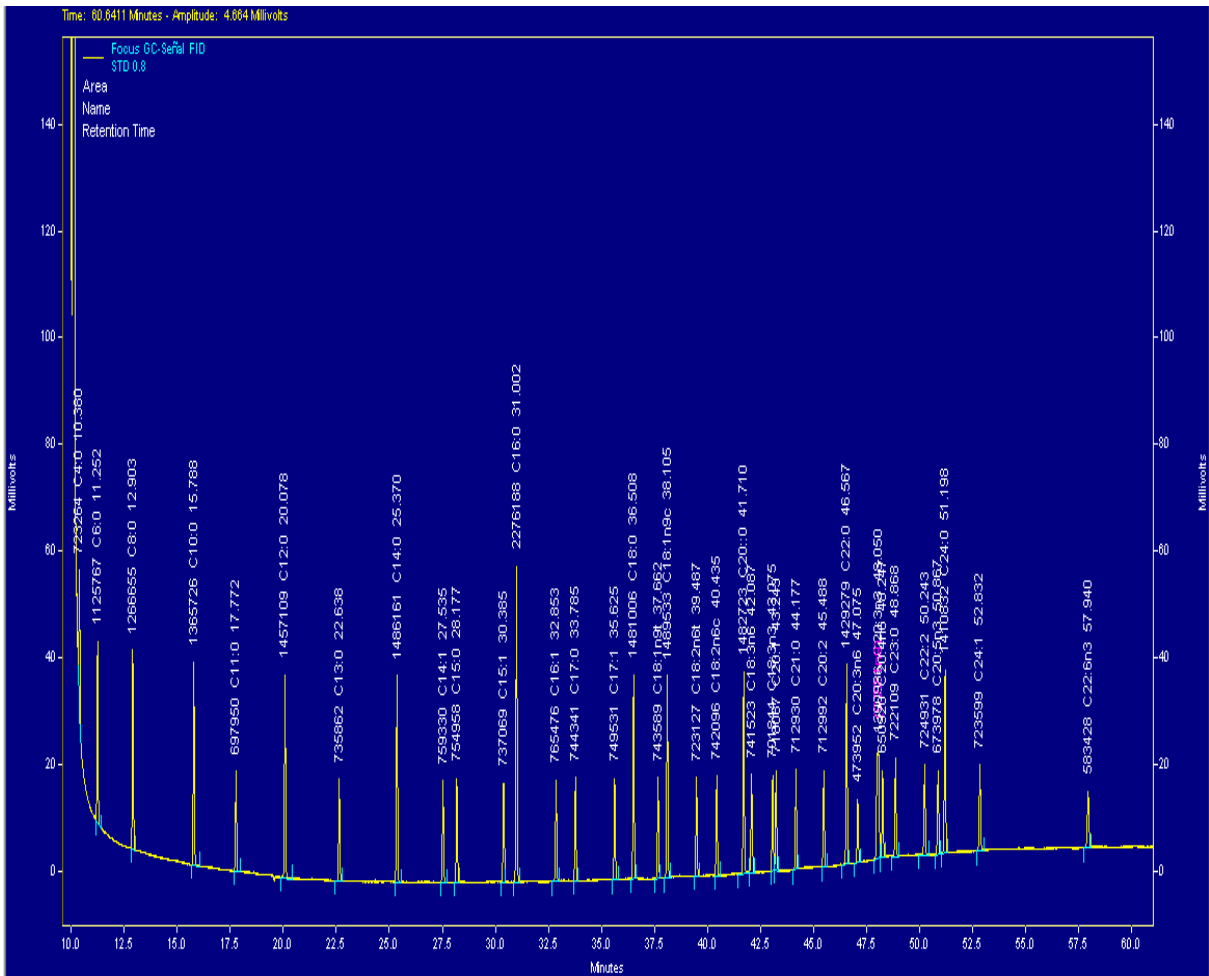
<b>Columna</b>	SP™- 2560 100m x 0,25mm ID. Diámetro de 0,20um
<b>Horno</b>	140° C (5min) a 240° C a 4° C /min
<b>Gas portador</b>	Helio: 20cm/sec
<b>Detector</b>	FID 260° C
<b>Inyección</b>	1ul, 260° C, Split 100:1
<b>Tiempo de corrida</b>	40 minutos

El cromatograma resultante del análisis presentó 20 picos correspondientes a los primeros 20 ácidos grasos de los 37 presentes en el estándar, además se obtuvo una baja resolución y pequeña distancia entre picos. Frente a estos resultados y con el objetivo de estandarizar el método a las necesidades del estudio, garantizando cromatogramas de alta resolución que incluya todos los picos con una óptima separación, se preparó nuevamente soluciones prueba y se inyectaron bajo las condiciones de operación iniciales, pero con algunas variaciones en cuanto a volumen de muestra a inyectar, tiempo de corrida, flujo de gas portador y programación de temperatura. Luego de varias pruebas se determinaron como óptimas a las siguientes condiciones cromatográficas.

**Tabla 2.3 Condiciones cromatográficas óptimas de operación para determinación de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 desarrolladas en el laboratorio**

<b>Volumen de inyección</b>		2.0 µL
<b>Gas portador</b>		Helio
<b>Presión de gases (Helio, Aire, Hidrogeno)</b>		< 100 psi
<b>Proporción Split</b>		50:1
<b>Flujo de trabajo</b>		1.0 mL/min
<b>Tiempo total de corrida de la muestra</b>		62,00 min
<b>Inyector</b>	<b>Temperatura</b>	260°C
<b>Horno</b>	<b>Variación</b>	2.4 °C/ min
	<b>Temperatura Inicial / Tiempo</b>	140°C por 5.00 min
	<b>Temperatura Rampa / Tiempo</b>	245 °C por 13.25 min
	<b>Temperatura máxima</b>	260 °C
<b>Detector</b>	<b>Temperatura</b>	260°C

Bajo estas condiciones cromatográficas se obtuvo el cromatograma que se encuentra en la figura 2.1 a continuación, el cual consta de los 37 ácidos grasos presentes en el estándar Supelco™ 37 Component FAME Mix.



**Figura 2.1** Cromatograma de Estándar bajo condiciones óptimas de operación

Posteriormente se definió los tiempos de retención tabulados en la tabla 2.4, para lo cual se tomó en cuenta el cromatograma de la figura 2.1 al obtenerse bajo las condiciones de operación desarrolladas y estandarizadas y al poseer una buena resolución y separación entre picos.

**Tabla 2.4 Tiempos de retención para ácidos grasos bajo condiciones cromatográficas de operación óptimas desarrolladas en el laboratorio**

<b>Ácidos Grasos</b>	<b>Tiempo de Retención</b>
C4:0	10.38
C6:0	11.252
C8:0	12.903
C10:0	15.788
C11:0	17.772
C12:0	20.078
C13:0	22.638
C14:0	25.37
C14:1	27.535
C15:0	28.177
C15:1	30.385
C16:0	31.002
C16:1	32.853
C17:0	33.85
C17:1	35.625
C18:0	36.508
C18:1n9t	37.662
<b>C18:1n9c</b>	<b>38.105</b>
C18:2n6t	39.487
<b>C18:2n6c</b>	<b>40.435</b>
C20:0	41.71
C18:3n6	42.087
<b>C18:3n3</b>	<b>43.075</b>
C20:1	43.243
C21:0	44.177
C20:2	45.488
C22:0	46.567
C20:3n6	47.075
C22:1n9	48.05
C20:3n3	48.05
C20:4n6	48.257
C23:0	48.877
C22:2	50.243
C20:5n3	50.867
C24:0	51.198
C24:1	52.832
C22:6n3	57.94

## 2.2 PREPARACIÓN Y VALIDACIÓN DE CURVAS DE CALIBRACIÓN

Se preparó curvas de calibración elaborando soluciones con concentración conocida a partir del estándar Supelco™ 37 Component FAME Mix de 10mg/mL en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> que contiene los analitos de interés. El rango de concentración establecida para las soluciones estándar se determinó tomando en cuenta los datos bibliográficos de concentración de los ácidos grasos omega de interés presentes en la semilla de lino, expuestos en la tabla 1.1 y se tomó en cuenta también la cantidad que se disponía del estándar. Las concentraciones definidas para las soluciones fueron 0.1; 0.3; 0.6; 0.9; 1.2 mg/mL, las cuales se prepararon e inyectaron por duplicado durante tres días en el cromatógrafo de gases bajo las condiciones cromatográficas óptimas detalladas en la tabla 2.3. Se sacó promedio de las áreas y relacionándolas con la señal se obtuvo las curvas de calibración que fueron validadas.

La validación es un proceso analítico importante que consiste en comprobar que un método establecido funciona de acuerdo con las especificaciones, en las condiciones disponibles y en el laboratorio usuario, también se entiende como un proceso de seguimiento que comprende la determinación de una serie de parámetros que demuestren que los resultados del método son confiables y reproducibles (Instituto de Salud Pública, 2010).

### Equipos

- Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific (GC Focus Series-FID) / modelo: GC Focus Series / Serie: 10901019 y un automuestreador serie 300
- Balanza Analítica Shimadzu
- Vortex Mixer Gemmy Industrial

## Materiales

- 16 viales ámbar con tapa rosca Agilent Technologies 2ml (5182-0716)
- 4 balones aforados de 1mL
- 1 balón aforado de 5mL
- 1 vaso de precipitación de 10mL
- Parafilm
- Pipeteador automático Accumax 100 – 1000 $\mu$ L

## Reactivos

- n-Hexano (Grado HPLC)
- Estándar Supelco<sup>TM</sup> 37 Component FAME Mix de 10mg/mL en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

## Procedimiento

Para la elaboración de las curvas de calibración se realizó en primera instancia una solución madre (SM) de concentración 1.2mg/mL ( $C_{SM}$ ), a partir del estándar Supelco<sup>TM</sup> 37 Component FAME Mix de 10mg/mL ( $C_{FAMES}$ ) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y para calcular el volumen necesario de solución estándar para preparar 5mL o 5000 $\mu$ L ( $V_{SM}$ ) de solución madre se utilizó la siguiente ecuación:

$$V_{FAMES} = V_{SM} * \frac{C_{SM}}{C_{FAMES}} \quad (2.1)$$

Se calculó como volumen necesario 600µL de estándar, volumen el cual se colocó en un balón de 5ml y se aforó con n-hexano grado HPLC, posteriormente se agitó en Vortex durante 30 segundos, se hermetizó la tapa del balón con parafilm y se mantuvo en refrigeración.

Para preparar las soluciones de trabajo (0,1 – 1,2 mg/mL) ( $C_{SOLUCION DE TRABAJO}$ ) para la curva de calibración; se retiró la solución madre del refrigerador, se dejó en la campana de extracción hasta que alcance la temperatura ambiente, se homogenizó en el Vortex por 30 segundos, posteriormente se prepararon y etiquetaron 4 balones aforados de 1 mL ( $V_{SOLUCION DE TRABAJO}$ ) y se procedió a calcular el volumen necesario de cada solución de trabajo a partir de la solución madre 1.2mg/mL ( $C_{SM}$ ), aplicando la siguiente ecuación:

$$V_{SM} = V_{SOLUCION DE TRABAJO} * \frac{C_{SOLUCION DE TRABAJO}}{C_{SM}} \quad (2.2)$$

Los cálculos de la preparación de soluciones de trabajo se encuentran detallados en el Anexo 1. En la tabla 2.5 se presentan los volúmenes de solución madre requeridos para preparar las soluciones de trabajo.

**Tabla 2.5 Preparación de soluciones de trabajo para curvas de calibración**

Concentración (mg/mL)	Volumen Final (mL)	Volumen (µL)	
		FAMES Agregada	Solución Final
0.1	1	83	1000
0.3	1	250	1000
0.6	1	500	1000
0.9	1	750	1000
1.2	1	SM	1000

Una vez colocado el contenido exacto de solución madre, se aforaron los balones con n-hexano grado HPLC, luego se homogenizó cada balón en el Vortex durante al menos 30 segundos se hermetizaron los viales con parafilm y se guardaron en refrigeración.

Las soluciones de trabajo se inyectaron en el cromatógrafo por duplicado durante 3 días diferentes y se analizaron bajo las condiciones cromatográficas óptimas para determinación de ácidos grasos detalladas en la tabla 2.3. La respuesta del equipo a cada analito se relaciona en función a su concentración y así se estableció curvas de calibración para cada omega de interés.

Para asegurar el método y garantizar confiabilidad en los resultados del estudio se validaron las curvas de calibración determinando los siguientes parámetros: linealidad, sensibilidad, límite de detección y cuantificación, precisión: repetibilidad / reproducibilidad y exactitud según la Norma INEN ISO/IEC 17025: “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración”

La *linealidad* del sistema en el intervalo de concentración estudiado se determinó por el coeficiente de correlación;  $R^2$  que indica el grado de relación entre la concentración y la respuesta en la curva de calibración. Mientras su valor es más próximo a la unidad, hay mayor linealidad entre los intervalos de concentración estudiados. Para el análisis se consideró como valores aceptables si el coeficiente de correlación es igual o mayor a 0,995 y se obtuvo con la siguiente ecuación.

$$R = \frac{\sigma_{xy}}{\sigma_X \sigma_Y} \quad (2.3)$$

$$\sigma_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i Y_i}{n} - (\bar{X} \cdot \bar{Y}) \quad (2.4)$$

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.5)$$

$$\sigma_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}} \quad (2.6)$$

Donde  $\sigma$  es desviación estándar,  $n$  es número de muestras,  $\bar{X}$  es el promedio de los valores  $x$  ( $X_i$ ),  $\bar{Y}$  es el promedio de los valores  $y$  ( $Y_i$ ).

La pendiente ( $m$ ) de la recta de la curva de calibración está asociada a la *sensibilidad* del método, que indica la capacidad de respuesta instrumental que existe frente a una determinada cantidad de analito. Se considera que un método es sensible cuando una pequeña variación de concentración determina una gran variación de respuesta y esto ocurre cuando la recta de la curva de calibración posee un valor de ( $m$ ) alto: a mayor pendiente; mayor sensibilidad. La pendiente se calculó con la siguiente ecuación:

$$m = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (2.7)$$

La ordenada al origen ( $b$ ) de la curva de calibración indica la magnitud de la señal estimada del blanco.

El *límite de detección (LD)* es la concentración mínima de sustancia que puede ser detectada y el *límite de cuantificación (LC)* es la concentración mínima de sustancia que

puede ser cuantificada. Experimentalmente el LD y LC se determinó mediante el análisis repetido de un blanco, para el efecto se analizó una muestra de agua destilada que siguió el tratamiento muestral descrito en el apartado 2.3, posteriormente se analizó en el cromatógrafo de gases - FID por 10 veces. Se calculó límite de cuantificación (LC) y límite de detección (LD) con las siguientes ecuaciones:

$$LC = 10 \sigma_0 \quad (2.8)$$

$$LD = 3 \sigma_0 \quad (2.9)$$

Donde  $\sigma_0$  es la desviación estándar de las lecturas de concentración del blanco.

Las dos medidas más comunes de la *precisión* son la repetibilidad y reproducibilidad. La *repetibilidad* es la precisión más pequeña esperada, da una idea de la variabilidad que se espera cuando un método es aplicado en mismas condiciones y en intervalos cortos de tiempo. En el estudio se estableció este parámetro mediante inyecciones por duplicado de cada solución estándar durante un mismo día y bajo las mismas condiciones.

La *reproducibilidad* es la variabilidad que presenta un método al ser aplicado en diferentes condiciones y a intervalos de tiempo más largos. Para evaluar la reproducibilidad del método se realizaron inyecciones de cada solución estándar por duplicado durante tres días. La *repetibilidad* y *reproducibilidad* fueron evaluadas a partir de coeficientes de variación (%CV). Para el análisis se consideró como valores aceptables, si los coeficientes de variación son menores al 10%. El coeficiente de variación (%CV) se determinó con las ecuaciones siguientes:

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100 \quad (2.10)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (xi - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.11)$$

Donde  $xi$  es el valor de una lectura,  $\bar{X}$  promedio de la totalidad de lecturas,  $n$  es el número de lecturas y  $\sigma$  la desviación estándar.

La *exactitud* se evaluó a través de porcentajes de recuperación, que permite ver el rendimiento de un método analítico. Para calcular la recuperación se prepararon soluciones a tres niveles de concentración conocida; bajo (0.2mg/mL), medio (0.4mg/mL) y alto (0.6mg/mL), de modo que cubran el intervalo de trabajo 0,1 - 1,2 mg/mL, las soluciones de concentración conocida fueron inyectadas en muestras, las muestras fortificadas siguieron el tratamiento muestral definido en el apartado 2.3 y finalmente se inyectaron 6 veces cada una en el equipo de cromatografía de gases – FID. El criterio de aceptación adecuado para la recuperación según la AOAC es de 80 – 110%. El porcentaje de recuperación se calculó de la siguiente manera:

$$\%R = R \times 100 \quad (2.12)$$

$$R = \left( \frac{C_e - C_o}{C_a} \right) \quad (2.13)$$

Siendo  $C_e$  concentración de analito medido en la muestra enriquecida,  $C_o$  concentración de analito medido sin adicionar muestra,  $C_a$  concentración conocida de analito adicionada a la muestra (Instituto de Salud Pública, 2010).

## **2.3 TRATAMIENTO DE MUESTRA**

El procedimiento completo de tratamiento de muestra se encuentra ilustrado en el diagrama gráfico del Anexo 2.

### **2.3.1 MUESTREO DE LAS SEMILLAS DE LINO**

El muestreo utilizado fue aleatorio simple que consistió en tomar doce muestras de semillas de lino ecuatorianas y doce muestras de semillas de lino canadienses al azar, adquiridas en diferentes supermercados (Supermaxi, Megasantamaría, Mi Comisariato, Aki), mercados (La Ofelia, Iñaquito, Santa Clara, San Roque) y tiendas naturistas (Natural Life, Vida Sana, Punto Natura, El polen, Vida Salud) del norte, centro y sur de Quito. En total se adquirieron 24 muestras de linaza entre 100 a 500 gramos.

Para asegurar la procedencia y especie de las semillas de lino se realizó lo siguiente:

- ✓ Los vendedores de la semilla de lino de los diferentes supermercados, centros naturistas y mercados firmaron un documento que certifica el origen de las muestras adquiridas de semilla de lino ecuatoriana y canadiense. (Anexo 11 y 12).
- ✓ Se obtuvo un certificado del Herbario QCA de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE (Anexo 3), el cual indica que en el Ecuador continental se cultiva únicamente la semilla de lino de la especie *Linum usitatissimum*.
- ✓ Se compró muestras en fundas etiquetadas que contenían información de la especie de la semilla de lino canadiense y el país de origen, complementario a esto, con las

primeras 5 muestras adquiridas se realizó un examen de características macroscópicas que arrojó los siguientes resultados: TAMAÑO: Aproximadamente 5mm / FORMA: Almendrada / COLOR: Café oscuro. Estas características al coincidir con los datos bibliográficos emitidos por Flax Council of Canada, 2013, se tomaron en cuenta en la selección y muestreo de las semilla de lino (*Linum usitatissimum*) canadiense.

- ✓ Se realizó un análisis taxonómico de una planta de lino ecuatoriana comprada a un agricultor de Machachi en el Herbario QCA de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE. El análisis taxonómico (Anexo 4), afirmó que la planta de lino era de la especie *Linum usitatissimum*. Complementario a dicho análisis se realizó un examen de las características macroscópicas de la semilla de la planta de lino nacional, este arrojó los siguientes resultados: TAMAÑO: Más pequeña que la canadiense / FORMA: Aplanada y alargada / COLOR: Café cobrizo. Estas características se tomaron en cuenta en la selección y muestreo de las semillas de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatorianas.

## **Equipos**

- Molino S/MA

## **Material**

- Frascos de plástico
- Material para etiquetado

## **Procedimiento**

Se molió las muestras de semilla de lino por separado, limpiando adecuadamente el molino entre muestra y muestra y posteriormente se colocó una por una las muestras de semilla de lino molidas en frascos plásticos previamente etiquetados.

### **2.3.2 EXTRACCIÓN DE GRASA DE LAS SEMILLAS DE LINO POR EL MÉTODO SOXHLET**

Es un método de extracción continua de grasa que se utiliza para muestras sólidas, consiste en colocar la muestra a extraer (previamente molida y pesada), en un cartucho de celulosa que se introduce en una cámara de extracción conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. Se coloca disolvente en un balón el cual se calienta a ebullición, el vapor del disolvente que se produce por el calentamiento, asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir la mayor extracción de grasa. Este método de extracción se basa en el principio de solubilidad que posee la grasa en solventes orgánicos (hexano) que cada vez que toman contacto con la muestra arrastran la grasa y la disuelven. Al final del proceso se recupera la grasa evaporando el solvente.

El método de extracción de grasa que se usó como referencia se detalla a continuación.

**Tabla 2.6 Método de referencia para cuantificación de grasa total en la semilla de lino**

<b>Método</b>	<b>Análisis</b>	<b>Paginas</b>
AOAC Official Method 2003.06 (AOAC,2012)	Crude Fat in feeds, Cereal grains, and forages: Applicable to the analysis of forages, cereal grains, and animal feeds other than backed or expanded products, dried milk or milk products, fishmeal, or oilseeds at concentrations from 0.2 to 100% fat.	Chapter 4, p. 43 (4.5.06)

### **Equipos**

- Balanza Analítica Shimadzu
- Desecador de vidrio Simax
- Estufa con regulador de temperatura Fanem
- Equipo de vidrio Soxhlet de extracción de grasa Metrexlabs (Soxmetrex 6P)
- Plancha de calentamiento Termolyne – Cimarec

### **Materiales**

- Espátula para microcantidades
- Papel filtro cualitativo
- 1 probeta de 100mL

### **Reactivos**

- n-Hexano

## Procedimiento

Se taró 24 balones Soxhlet en una estufa ajustada a 130°C durante aproximadamente 1 hora, luego se procedió a retirar de la estufa los balones y se los colocó en un desecador por 30 minutos. Se pesó en la balanza analítica los balones fríos, registrando el peso inicial ( $P_i$ ), después se pesó en un papel cualitativo 2g la muestra molida de semilla de lino y se registró el peso de muestra ( $P_m$ ). Luego se selló y colocó el papel con muestra, en el compartimento de muestra del equipo Soxhlet. Posteriormente se abrió las llaves de agua para que exista reflujo en el sistema, se colocó 100ml de solvente n-hexano en el compartimento de la muestra, se prendió la plancha de calentamiento a una temperatura de 100°C y se extrajo la grasa de la muestra por 4 horas dentro de las cuales se esperan 15 - 25 sifonadas. Al cabo del tiempo de extracción se apagó la plancha de calentamiento, se recuperó el hexano sobrante en un vaso de precipitación y se dejó enfriar los balones por 10 minutos, se colocaron los balones en la estufa a 100°C durante 30 minutos y luego se los colocó en un desecador para que se enfríen. Finalmente se pesaron los balones registrando el peso final ( $P_f$ ).

## Cálculos

Para realizar el cálculo del contenido de grasa se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ GRASA} = \frac{P_f(g) - P_i(g)}{P_m(g)} \times 100 \quad (2.14)$$

Donde  $P_m$ : Peso de la muestra,  $P_i$ : Peso inicial del balón Soxhlet vacío y  $P_f$ : Peso final del balón Soxhlet con grasa

### 2.3.3 DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE LINO

La muestra se derivatizó con la finalidad de transformar los ácidos grasos en ésteres metílicos, los cuales poseen puntos de ebullición dentro del rango de operación del cromatógrafo de gases para la columna. Los ésteres metílicos se forman por transesterificación en frío con una solución metanólica bajo la acción de hidróxido potásico como catalizador. (Montero et al., 2003)

Los métodos de referencia que se tomaron en cuenta para la derivatización son los descritos en la siguiente tabla.

**Tabla 2.7 Métodos de referencia para derivatización y determinación de ácidos grasos**

<b>Método</b>	<b>Análisis</b>	<b>Páginas</b>
El Reglamento (CE) n° 2568/91. (Reglamento Comunidades Europeas, 2002)	Método para la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos	Método A p. 58
IUPAC Method 2.301 (IUPAC, 1992)	Preparation of fatty acid methyl esters	In Standard Methods for the analysis of oils, fats and derivatives: Punto 5
ISO 5509: 2000 (ISO, 2001)	Animal and vegetable fats and oils: Preparation of methyl esters of fatty acids	BS 684-2.34:2001 punto 5

#### **Equipos**

- Balanza Shimatzu
- Centrifugadora Clay Adams
- Vortex Mixer Gemmy Industrial

## **Materiales**

- Gradilla para tubos de ensayo
- 24 Tubos de ensayo de 10mL con tapa rosca
- Espátula para microcantidades
- 1 Pipeta volumétrica de 2mL
- Pipeteador automático Accumax 100 – 1000uL
- Pipeteador

## **Reactivos**

- n-Hexano (Grado HPLC)
- KOH sólido
- Metanol (Grado HPLC)

## **Procedimiento**

Primero se lavó y secó adecuadamente todo el material de vidrio a utilizar, luego se etiquetó 24 tubos de ensayo de 10mL con rosca y se los colocó en una gradilla, se pesó 100 mg de la grasa de la muestra de semilla de lino extraída por Soxhlet en los tubos de ensayo en los cuales se pipeteó 2mL de n-hexano grado HPLC con una pipeta volumétrica con el objetivo de disolver los ácidos grasos, luego se taparon los tubos y se agitaron por 30 segundos, una vez transcurrido el tiempo, se añadió 200  $\mu$ L de la solución de hidróxido de potasio metanólico 2N con un pipeteador automático, posteriormente se cerró el tubo herméticamente y se procedió a agitar por 30 segundos en el Vortex a máxima velocidad,

por 1 minuto a agitación vigorosa con la mano y a 30 segundos más en el Vortex para asegurar una reacción completa, finalmente se centrifugaron los tubos a una velocidad de 2000 rpm por 5 minutos con la finalidad de formar 2 fases: la acuosa que contiene glicerina y la orgánica que contiene los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Una vez finalizado el proceso de derivatización se almacenaron los tubos con los esteres de ácidos grasos en refrigeración.

#### **2.3.4 PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE LAS MUESTRAS DERIVATIZADAS DE SEMILLAS DE LINO**

Se realizaron diluciones de las muestras derivatizadas, ya que al colocar una muestra derivatizada sin dilución se obtuvo áreas de pico sumamente grandes las cuales no entraban dentro del rango de las áreas en las respectivas curvas de calibración de los analitos de interés, produciendo así una cuantificación irreal de los ácidos grasos según los datos bibliográficos, entonces, para obtener una cuantificación fiable por interpolación en la curva y encontrar diluciones óptimas con las cuales el área de los picos de los analitos se sitúen en la mitad de la curva correspondiente, se realizaron las siguientes diluciones prueba con las muestra derivatizadas de las semillas de lino: 200, 400, 500, 1000, 1250 y 2500, de las cuales se determinó que la dilución óptima para cuantificar el ácido graso alfa linolénico omega 3 es 1000 y la dilución óptima para cuantificar los ácidos grasos linoléico omega 6 y oléico omega 9 es 400.

#### **Materiales**

- Pipeteador automático Accumax 10 – 100uL

- 24 balones aforados de 10mL
- 24 balones aforados de 25mL
- Puntas plásticas para pipeteadores automáticos

## Reactivos

- n-hexano (grado HPLC)

## Procedimiento

Para elaborar las diluciones de 400 y 1000 se retiró del refrigerador la gradilla con los tubos con los esteres metílicos de ácidos grasos de las muestras de semilla de lino, mientras los tubos alcanzan la temperatura ambiente, se etiquetaron 24 balones aforados de 10mL y 24 balones aforados de 25mL, posteriormente se realizó las diluciones expuestas en la tabla 2.8 a continuación.

**Tabla 2.8 Diluciones de las muestras derivatizadas de semilla de lino**

ÁCIDOS GRASOS	DILUCIÓN	PREPARACIÓN
Ácido graso Linoléico y ácido graso oléico	400	Se tomó 25 $\mu$ L de la fase orgánica y se aforó con n-hexano HPLC en un balón de 10mL
Ácido graso alfa linoléico	1000	Se tomó 25 $\mu$ L de la fase orgánica y se aforó con n-hexano HPLC en un balón de 25mL

### **2.3.5 CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS SEMILLAS DE LINO**

La cuantificación de los ácidos grasos en las muestras de semilla de lino se realiza en un equipo de cromatografía de gases que separa compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. En el equipo se inyecta la muestra (previamente derivatizada y diluida) en la fase móvil, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna capilar, la columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria. Los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que son cuantificadas mediante un detector. (Quiróz, 2006)

#### **Equipo**

- Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific (GC Focus Series-FID) / modelo: GC Focus Series / Serie: 10901019 y un automuestreador serie 300

#### **Reactivos**

- n-Hexano grado HPLC
- Soluciones derivatizadas y diluidas de las muestras de semilla de lino ecuatoriana y canadiense.

#### **Procedimiento**

Se colocaron las soluciones de muestra con los esteres metílicos de ácidos grasos diluidos en viales ámbar para cromatografía previamente etiquetados, luego se verificó que la presión del helio, aire e hidrogeno sea menor a 100 PSI y que las condiciones de operación de cada componente del equipo sean las adecuadas, posteriormente se abrió el paso de los gases, se prendió la computadora, el equipo CG-FID, el triplus inyector, el generador de hidrogeno, se llenaron los frascos dispensadores del equipo con n-hexano grado HPLC y en la computadora se procedió a cargar el método con las curvas de calibración y las condiciones cromatográficas de operación optimas detalladas en la tabla 2.3, a continuación se procedió a realizar una secuencia para analizar 48 muestras, en este paso se colocó en la información de la muestra; el factor de dilución 1000 para 24 muestras en las cuales se cuantificó omega 3 (AAL) y el factor 400 para 24 muestras en las cuales se cuantificó omega 6 (AL) y 9 (AO), una vez realizado esto se corrió la secuencia.

## **Cálculos**

El cromatografo de gases – FID cuantificó a los ácidos grasos mediante interpolación automática en las respectivas curvas de calibración y tomando en cuenta el factor de dilución ingresado al realizar la secuencia. Los ácidos grasos cuantificados se expresaron en porcentaje con respecto a 100% de grasa, para el análisis de datos, se realizó una regla de tres para calcular el porcentaje de ácidos grasos en porcentaje real de grasa.

## **2.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS**

### **2.4.1 MEDIA O PROMEDIO**

La media o promedio es un número finito que se obtiene a partir de la sumatoria de diferentes valores divididos para el número de sumandos. La media se calcula con la siguiente fórmula:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (2.15)$$

Donde n es el número de datos, i representa el número de serie de una medida arbitraria y x es el parámetro medido.

Se calculó la media de los 24 valores de grasa y los respectivos valores de ácidos grasos tanto de la semilla de lino ecuatoriana como de la canadiense.

#### **2.4.2 DESVIACIÓN ESTÁNDAR**

La desviación estándar es una medida de la dispersión, que nos indica cuánto pueden alejarse los valores respecto al promedio o media. Para obtener la desviación estándar se toma la raíz cuadrada de la varianza que es la media de los cuadrados menos el cuadrado de las medias, y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.16)$$

Donde n es el número de datos,  $X_i$  representa un dato numérico y  $\bar{X}$  representa el promedio de datos.

Se obtuvo la desviación estándar de los 24 valores de grasa tanto de la semilla de lino ecuatoriana como la canadiense y de los valores de ácidos grasos.

### **2.4.3 PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN**

El objetivo de las pruebas de significación es discernir si dos o más estadísticas se pueden considerar provenientes de una misma población o no, o si las diferencias entre dos o más variables aleatorias se deben a la propia naturaleza aleatoria de las mismas o si, por el contrario, existe algún efecto o factor que las hace diferentes.

Cuando se realiza las pruebas de significación se comprueba una hipótesis de investigación que se la denomina como hipótesis nula ( $H_0$ ) la cual ayuda a determinar si existe una diferencia entre grupos, si esta diferencia es significativa o si no se debió al azar. El término nulo se atribuye a que esta hipótesis indica que no existe diferencia entre dos grupos de valores, por lo que la Hipótesis nula se acepta cuando no existen diferencias significativas entre valores comparados o se rechaza cuando existen diferencias a un determinado nivel de confianza o nivel de significación que fija la probabilidad de acertar con la decisión tomada. (Gallego, 2003).

En el presente estudio la prueba de significación que se utilizó para comparar los valores de ácidos grasos omega de los dos tipos de semilla de lino es la prueba t de student.

#### **2.4.3.1 PRUEBA t DE STUDENT (Sánchez, 2014)**

La prueba t de Student es una prueba de significación utilizada cuando los datos a analizar tienen una distribución normal pero el tamaño de muestra es pequeño. Se utiliza para determinar si hay diferencia significativa entre las medias de dos grupos.

Para realizar el análisis de la prueba t se calcula: medias, desviaciones estándar, grados de libertad ( $n-1$ ), un valor  $t_{TABULADO}$  que se obtiene de “la tabla t de Student” (Anexo 10)

tomando en cuenta los grados de libertad y un valor  $t_{\text{CALCULADO}}$  que se obtiene dependiendo del tipo de prueba t de Student que se aplique al estudio. Existen las siguientes pruebas t:

- t dependiente para muestras pareadas o relacionadas
- t independiente para dos grupos aleatorios que se aplica para
  - Grupos con varianzas que si poseen diferencias significativas en los cuales se emplea la siguiente ecuación para obtener  $t_{\text{CALCULADO}}$ :

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (2.17)$$

- Grupos con varianzas que no poseen diferencias significativas en los cuales se ocupa la siguiente ecuación para obtener  $t_{\text{CALCULADO}}$ .

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (2.18)$$

$$s = \frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{2} \quad (2.19)$$

En el análisis final de la prueba t se considera lo siguiente:

$t_{\text{CALCULADO}} < t_{\text{TABULADO}}$  = No existe diferencia significativa= Se acepta  $H_0$  nula

$t_{\text{CALCULADO}} > t_{\text{TABULADO}}$  = Si existe diferencia significativa= Se rechaza  $H_0$  nula

El valor de  $T_{\text{TABULADO}}$  se calculó a un nivel de confianza de 95%.

En el presente estudio de acuerdo a la naturaleza de las muestras de semilla de lino se utilizó la t independiente para dos grupos aleatorios y para definir qué fórmula se debe utilizar para obtener  $t_{\text{CALCULADO}}$ , se realizó un análisis de las varianzas de los datos de ácidos grasos pertenecientes a los dos tipos de semilla de lino, mediante la prueba F de Fisher.

#### 2.4.3.2 PRUEBA F DE FISHER (Sánchez, 2014)

La prueba F es una prueba de significación que compara dos varianzas y determina si existen o no diferencias significativas entre ellas. Para realizar el análisis de la prueba F de Fisher se calculó en primera instancia las varianzas de los datos con la siguiente ecuación.

$$V = \sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1} \quad (2.20)$$

Luego se obtuvo  $F_{\text{CALCULADA}}$  al dividir la mayor varianza colocada en el numerador para la menor varianza de entre los dos grupos colocada en el denominador, tal como se observa en la ecuación 2.21.

$$F_{\text{CALCULADA}} = \frac{V_1}{V_2} \quad (2.21)$$

Posteriormente el valor de ( $F_{\text{CALCULADA}}$ ) se comparó con ( $F_{\text{TABULADA}}$ ) que se obtuvo de la tabla de Fisher (Anexo 9) al relacionar n-1 grados de libertad del numerador (mayor variancia) con n-1 grados de libertad del denominador (menor variancia).

Finalmente para el análisis final se consideró lo siguiente:

$F_{\text{TABULADA}} > F_{\text{CALCULADA}} =$  No existen diferencias significativas entre las varianzas

$F_{\text{TABULADA}} < F_{\text{CALCULADA}} =$  Si existen diferencias significativas entre las varianzas

El valor de  $F_{\text{TABULADA}}$  se puede calcular a niveles de significación de 0.05 y 0.01. En el presente estudio se calculó  $F_{\text{TEORICA}}$  con un nivel de significación de 0.05.

## CAPITULO 3

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

En las tablas 3.1; 3.2 y 3.3 se presentan las áreas de los picos de ácidos grasos AAL, AL y AO medidas el primer día de validación, las concentraciones de las soluciones estándar y los promedios y desviación estándar de los datos, necesarios para determinar el coeficiente de variación y analizar repetibilidad.

**Tabla 3.1 Áreas para curvas de calibración de AAL determinadas el primer día de la validación**

Concentración mg/mL	ÁREA ω 3 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	129065,00	130384,00	129724,50	932,67	<b>0,72</b>
0,3	297134,00	304712,00	300923,00	5358,46	<b>1,78</b>
0,6	718289,00	736274,00	727281,50	12717,32	<b>1,75</b>
0,9	1095313,00	1123332,00	1109322,50	19812,42	<b>1,79</b>
1,2	1548136,00	1468531,00	1508333,50	56289,24	<b>3,73</b>

**Tabla 3.2 Áreas para curvas de calibración de AL determinadas el primer día de la validación**

Concentración mg/MI	ÁREA ω 6 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	146087,00	150919,00	148503,00	3416,74	<b>2,30</b>
0,3	335856,00	345389,00	340622,50	6740,85	<b>1,98</b>
0,6	794180,00	812463,00	803321,50	12928,03	<b>1,61</b>
0,9	1182955,00	1224479,00	1203717,00	29361,90	<b>2,44</b>
1,2	3260163,00	3155009,00	3207586,00	74355,11	<b>2,32</b>

**Tabla 3.3 Áreas para curvas de calibración de AO determinadas el primer día de la validación**

Concentración mg/mL	ÁREA ω 9 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	296526,00	297552,00	297039,00	725,49	<b>0,24</b>
0,3	671909,00	692531,00	682220,00	14581,96	<b>2,14</b>
0,6	1576681,00	1607583,00	1592132,00	21851,01	<b>1,37</b>
0,9	2365398,00	2431164,00	2398281,00	46503,58	<b>1,94</b>
1,2	3260163,00	3155009,00	3207586,00	74355,11	<b>2,32</b>

En las tablas 3.4; 3.5 y 3.6 a continuación se presentan las áreas de los picos de ácidos AAL, AL y AO medidas los tres días de validación, las concentraciones de las soluciones estándar y los promedios y desviación estándar de los datos, calculados para determinar el coeficiente de variación de los datos y analizar reproducibilidad.

**Tabla 3.4 Áreas para curvas de calibración de AAL determinadas en tres días de la validación**

CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	129724,50	131125,50	135848,00	132232,67	3208,38	<b>2,43</b>
<b>0,3</b>	300923,00	296631,50	299284,50	298946,33	2165,64	<b>0,72</b>
<b>0,6</b>	727281,50	725836,50	735927,50	729681,83	5456,95	<b>0,75</b>
<b>0,9</b>	1109322,50	1187873,00	1165350,50	1154182,00	40448,69	<b>3,50</b>
<b>1,2</b>	1508333,50	1476432,50	1570287,50	1518351,17	47722,69	<b>3,14</b>

**Tabla 3.5 Áreas para curvas de calibración de AL determinadas en tres días de la validación**

CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	148503,00	154023,00	158966,50	153830,83	5234,40	<b>3,40</b>
<b>0,3</b>	340622,50	333298,00	332779,00	335566,50	4386,31	<b>1,31</b>
<b>0,6</b>	803321,50	796171,50	808075,00	802522,67	5991,82	<b>0,75</b>
<b>0,9</b>	1203717,00	1270633,50	1271975,00	1248775,17	39027,28	<b>3,13</b>
<b>1,2</b>	1605537,50	1595116,50	1677899,50	1626184,50	45088,58	<b>2,77</b>

**Tabla 3.6 Áreas para curvas de calibración de AO determinadas en tres días de la validación**

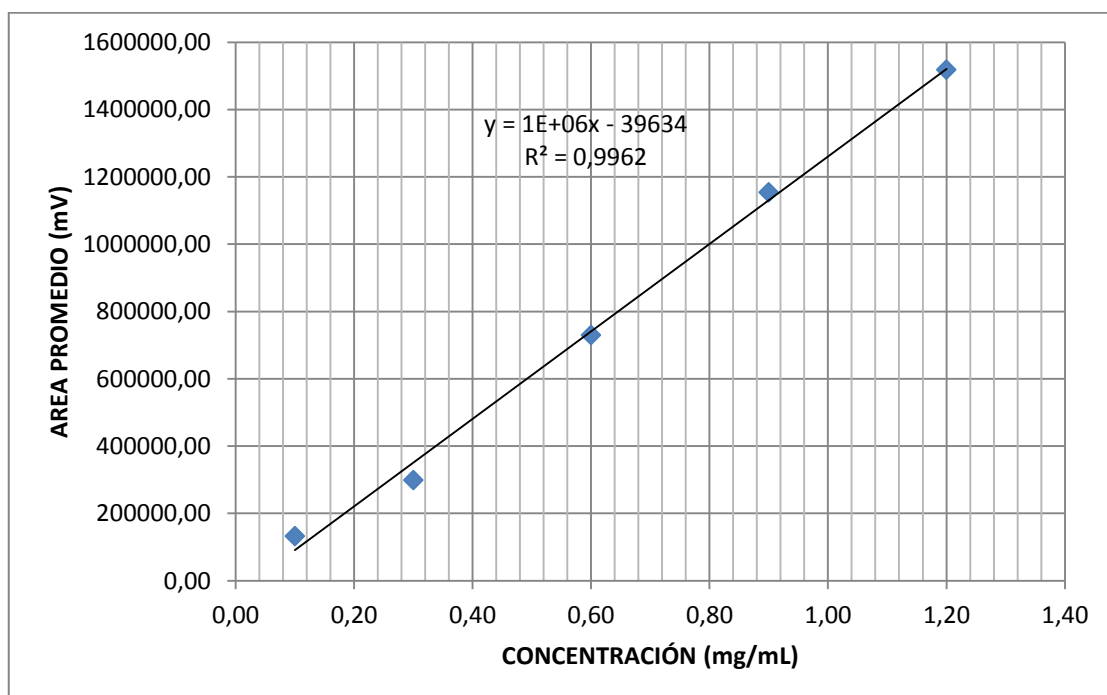
CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	297039,00	299986,50	305002,50	300676,00	4026,28	<b>1,34</b>
<b>0,3</b>	682220,00	659997,50	666535,50	669584,33	11420,66	<b>1,71</b>
<b>0,6</b>	1592132,00	1593459,00	1607131,50	1597574,17	8303,44	<b>0,52</b>
<b>0,9</b>	2398281,00	2529774,50	2532837,50	2486964,33	76817,29	<b>3,09</b>
<b>1,2</b>	3207586,00	3180193,50	3338710,00	3242163,17	84726,36	<b>2,61</b>

La reproducibilidad y repetibilidad son medidas de la precisión del método y se analizan mediante el estudio de los coeficientes de variación %CV que deben ser inferiores al 10%. Tanto en las tablas 3.1; 3.2; 3.3 como en las tabla 3.4; 3.5; 3.6 se observa que los porcentajes del coeficiente de variación (%CV) son inferiores a 10% incluso son menores a 5%, lo que indica que el método para determinar ácidos grasos tiene una buena repetibilidad y reproducibilidad y por lo tanto una buena precisión.

A continuación se presentan los datos tabulados de promedio de áreas, la concentración de las soluciones estándar y las curvas de calibración de ácidos grasos AAL, AL y AO.

**Tabla 3.7 Concentraciones y áreas para curva de calibración de ácido alfa linolénico**

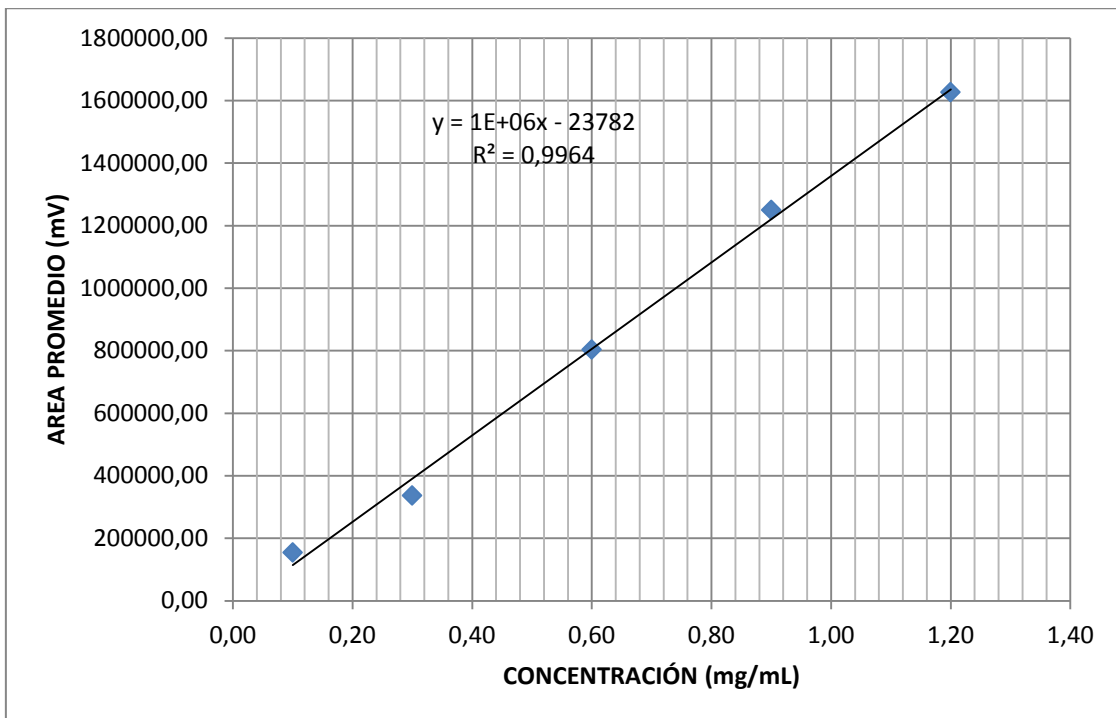
<b>Concentración mg/mL</b>	<b>Áreas mV</b>
0,1	132232,67
0,3	298946,33
0,6	729681,83
0,9	1154182,00
1,2	1518351,17



**Figura 3.1 Curva de calibración de ácido alfa linolénico**

**Tabla 3.8 Concentraciones y áreas para curva de calibración de ácido linoléico**

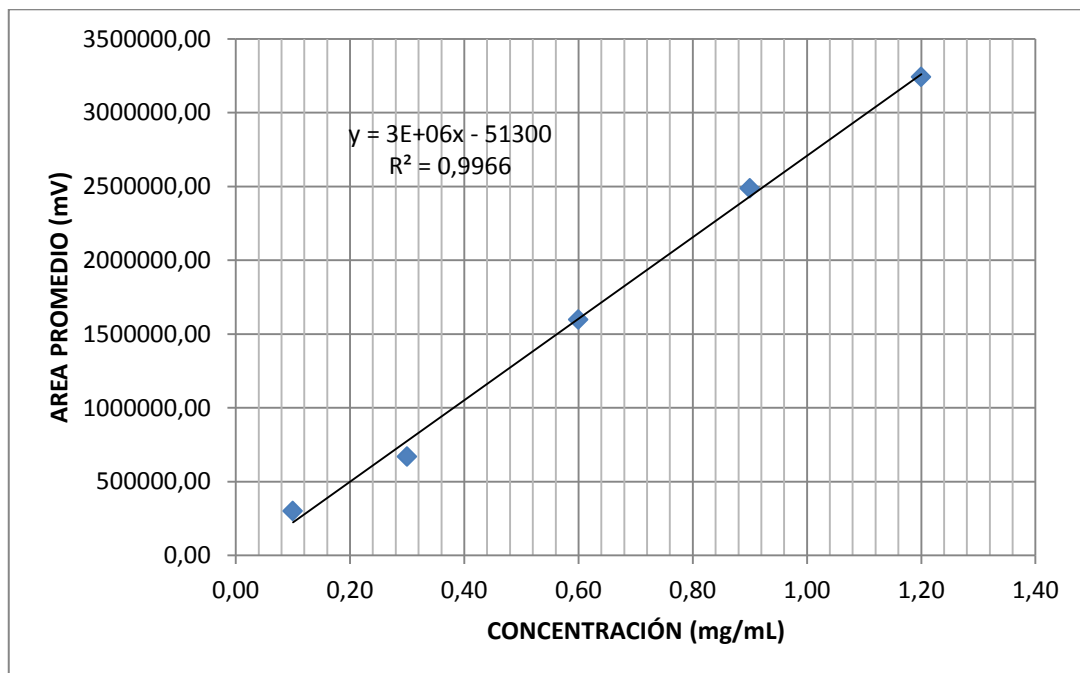
<b>Concentración mg/mL</b>	<b>Áreas mV</b>
0,1	153830,83
0,3	335566,50
0,6	802522,67
0,9	1248775,17
1,2	1626184,50



**Figura 3.2 Curva de calibración de ácido linoléico**

**Tabla 3.9 Concentraciones y áreas para curva de calibración de ácido oléico**

<b>Concentración mg/mL</b>	<b>Áreas mV</b>
0,1	300676,00
0,3	669584,33
0,6	1597574,17
0,9	2486964,33
1,2	3242163,17



**Figura 3.3 Curva de calibración de ácido oléico**

A partir del análisis de tendencia de la recta de las curvas de calibración de cada ácido graso y de los cálculos resultantes de los parámetros de validación establecidos (Anexo 1), se obtuvo los siguientes resultados.

**Tabla 3.10 Resultados de la validación del método para la determinación de omega 3, 6 y 9 en la semilla de lino**

Parámetros de Validación		Ácidos Grasos		
		Omega 3 (AAL)	Omega 6 (AL)	Omega 9 (AO)
Coeficientes de correlación ( $R^2$ )		0,996	0,996	0,997
Pendiente (m)		$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$3 \times 10^6$
Límite de Detección (mg/mL)		0,00395	0,00406	0,00405
Límite de Cuantificación (mg/mL)		0,01317	0,01354	0,01350
Rango de trabajo (mg/mL)		0,1 – 1,2		
Exactitud	Recuperación Nivel bajo 0,2mg/mL	82%	90%	81%
	Recuperación Nivel medio 0,4mg/mL	89%	97%	98%
	Recuperación Nivel alto 0,6mg/mL	92%	93%	96%

Los coeficientes de correlación  $R^2$  son medidas de la linealidad de la curva, su valor debe ser igual o mayor a 0,995. Los  $R^2$  obtenidos de las curvas de calibración de AAL, AL y AO son mayores a 0,995 por lo que se demuestra una linealidad adecuada del método en el rango de trabajo de 0,1 – 1,2 mg/mL.

El valor de sensibilidad está asociado al valor de la pendiente de las curvas de calibración, entre mayor sea el valor de la pendiente mayor es la sensibilidad. Observando que los valores de las pendientes en las curva son altos, se comprueba que si existe una buena sensibilidad del método, lo cual indica que el método permite detectar los mínimos cambios de concentración del analito en las muestras.

Los límites de detección (LD) obtenidos se encuentran en un rango de 0,00395 - 0,00406 y dan información de la mínima cantidad que puede detectarse por el método. Los límites de cuantificación (LC) obtenidos están entre 0,01317 - 0,01354 y brindan información de la cantidad mínima cuantificable aplicando el método. En general se observa que los límites de detección y cuantificación son bajos, esto es positivo ya que quiere decir que el método tiene la capacidad de detectar y cuantificar ácidos grasos a bajas concentraciones.

La exactitud del método es un parámetro medido por el porcentaje de recuperación calculado al analizar soluciones fortificadas. El rango de aceptabilidad de los porcentajes de recuperación va de 80 a 110%. Al observar los valores de recuperación del omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO) en soluciones fortificadas con soluciones de concentraciones conocidas, se determinan que los porcentajes de recuperación varían entre 81 a 98%, rango el cual entra dentro del criterio de aceptabilidad, por lo tanto se asevera que el método posee una buena exactitud en el rango de trabajo de 0,1 – 1,2 mg/mL.

### **3.2 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE GRASA DE LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA Y CANADIENSE**

Una vez validadas las curvas de calibración se procedió a moler y extraer la grasa de las muestras. El porcentaje de grasa se calculó por gravimetría.

En las tablas 3.11 y 3.12 siguientes se encuentran los porcentajes de grasa extraída, el promedio y la desviación estándar de los datos para cada tipo de semilla de lino.

**Tabla 3.11 Promedio y desviación estándar de los porcentajes de grasa de semilla de lino canadiense**

<b>MUESTRA</b>	<b>PESO INICIAL</b> $P_i$ (g)	<b>PESO MUESTRA</b> $P_m$ (g)	<b>PESO FINAL</b> $P_f$ (g)	<b>% GRASA</b>
1	118,4330	2,0299	119,2329	39,41
2	111,1805	2,0794	111,9700	37,97
3	119,6547	2,0538	120,4156	37,05
4	120,3148	2,0865	121,1580	40,41
5	74,2188	2,1658	75,0557	38,64
6	130,1089	2,0795	130,8877	37,45
7	75,0181	2,0713	75,8181	38,62
8	111,1679	2,0788	111,9496	37,60
9	112,3021	2,0403	113,1296	40,56
10	90,9214	2,0596	91,7595	40,69
11	113,3003	2,0448	114,1338	40,76
12	120,7130	2,0699	121,4640	36,28
<b>Promedio</b>				<b>38,79</b>
<b><math>\sigma</math></b>				<b>1,56</b>

**Tabla 3.12 Promedio y desviación estándar de los porcentajes de grasa de semilla de lino ecuatoriana**

<b>MUESTRA</b>	<b>PESO INICIAL</b> $P_i$ (g)	<b>PESO MUESTRA</b> $P_m$ (g)	<b>PESO FINAL</b> $P_f$ (g)	<b>% GRASA</b>
1	118,7429	2,0064	119,3754	31,52
2	122,5020	2,0610	123,1608	31,97
3	68,7360	2,0758	69,4009	32,03
4	113, 3970	2,0517	114,0854	33,55
5	134,2023	2,1613	134,8875	31,70
6	120,7324	2,0625	121,3705	30,94
7	66,5968	2,0661	67,2634	32,26
8	122,9268	2,0108	123,5821	32,59
9	113,3830	2,0596	114,1310	36,32
10	113,2874	2,0461	113,9852	34,10
11	134,1905	2,0384	134,9270	36,13
12	113,3984	2,0576	114,1108	34,62
<b>Promedio</b>				<b>33,15</b>
<b><math>\sigma</math></b>				<b>1,80</b>

La grasa es un nutriente que está presente de manera importante en la semilla de lino ya que contiene los ácidos grasos. De acuerdo a datos bibliográficos, el rango de grasa que posee la semilla de lino es de 34,0 – 47,8% (McKevith, 2005). El porcentaje promedio de grasa obtenido de la semilla de lino canadiense fue 39%, porcentaje que se considera aceptable al estar dentro del rango bibliográfico y el porcentaje promedio de grasa obtenido de la semilla de lino ecuatoriana fue 33% resultado que también se considera aceptable al ser un valor cercano al rango bibliográfico.

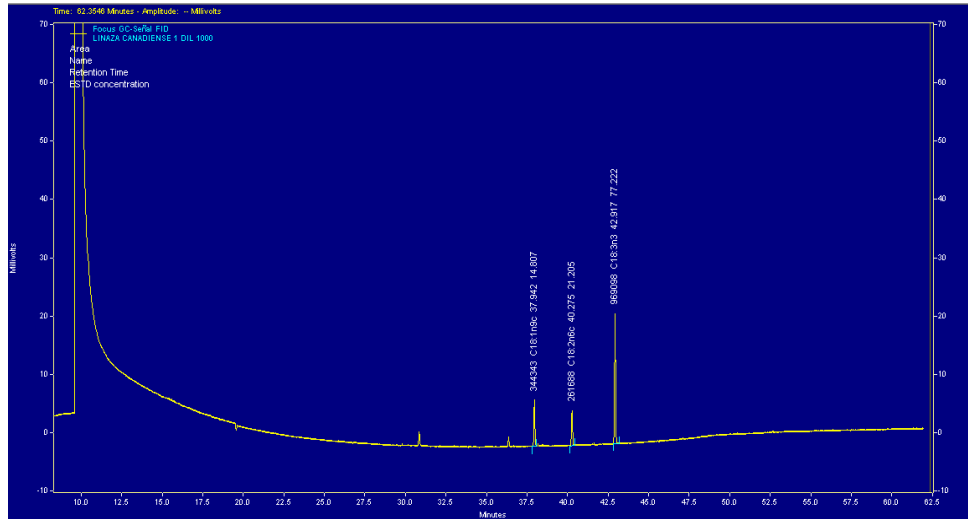
No se tiene datos bibliográficos con los que se pueda comparar el porcentaje de grasa obtenido en la semilla ecuatoriana, pero en el caso de la semilla de lino extranjera existen varios organismos internacionales que han realizado diversos estudios, como es el caso de la Comisión de Granos de Canadá (Canadian Grain Commission, 2001) que establece un porcentaje de grasa de 41% en la semilla de lino canadiense café, este dato al ser comparado con el 39% de grasa obtenido en la semilla canadiense del presente estudio, se determina un error porcentual de 5% que posiblemente se debe a la utilización de diferentes métodos de análisis y condiciones de operación, sin embargo el resultado obtenido de grasa se acepta al no estar muy alejado del valor citado.

El resultado de desviación estándar de los valores de grasa de la semilla de lino canadiense es de 1,6 y de la semilla de lino ecuatoriana es de 1,8. Ambas desviaciones estándar son algo elevadas, debido a que algunos valores de grasa tanto de la semilla ecuatoriana como la canadiense se alejan de la media.

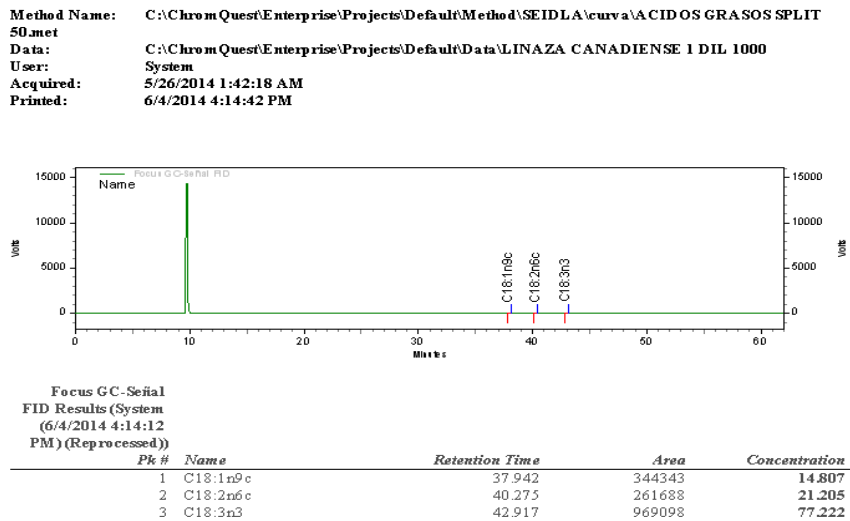
### **3.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LA CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE LINO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES - FID**

Se derivatizó la grasa de las muestras de lino, obteniendo metil ésteres de ácidos grasos y antes de analizar las muestras en el cromatógrafo de gases se realizaron dos diluciones: Una dilución de 1000 para cuantificar ácido alfa linolénico y otra de 400 para cuantificar ácido linoléico y ácido oléico.

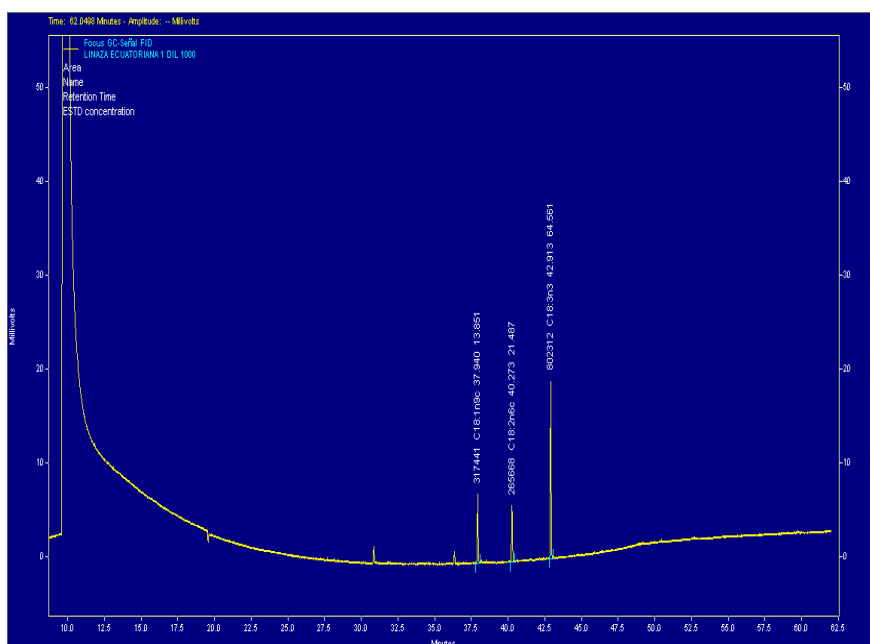
De la dilución de 1000 se obtuvo 12 cromatogramas de la semilla de lino canadiense y 12 de la ecuatoriana (Anexo 5) de los cuales se toma dos cromatogramas modelo de los dos tipos de semilla junto con su reporte de ácidos grasos, que se presentan a continuación



**Figura 3.4 Cromatograma de muestra 1 de semilla de lino canadiense con dilución 1000**

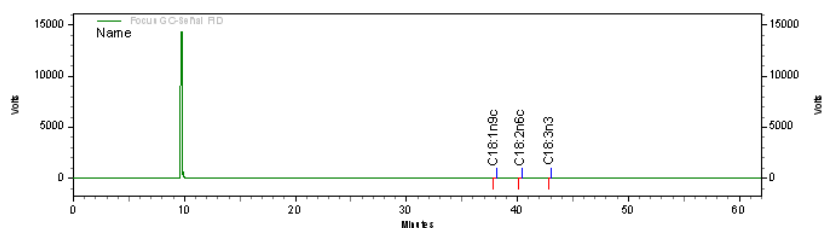


**Figura 3.5 Reporte de ácidos grasos de la muestra 1 de semilla de lino canadiense con dilución 1000**



**Figura 3.6** Cromatograma de muestra 1 de semilla de lino ecuatoriana con dilución  
1000

Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL\A\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT  
50.met  
Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 1 DIL 1000  
User: System  
Acquired: 5/26/2014 3:01:55 PM  
Printed: 6/4/2014 5:12:42 PM

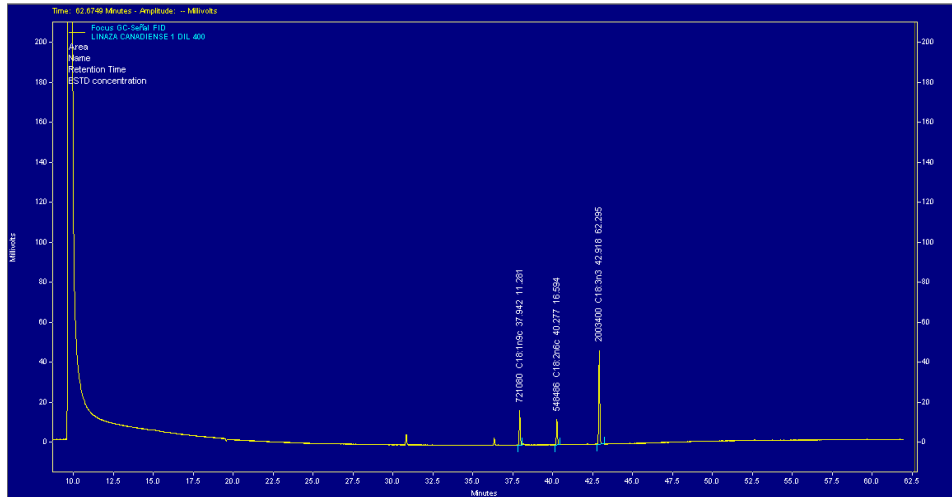


Focus GC-Sigal  
FID Results (System  
(6/4/2014 5:12:19  
PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	317441	13.851
2	C18:2n6c	40.273	265668	21.487
3	C18:3n3	42.913	802312	64.561

**Figura 3.7** Reporte de ácidos grasos de muestra 1 de semilla de lino ecuatoriana  
con dilución 1000

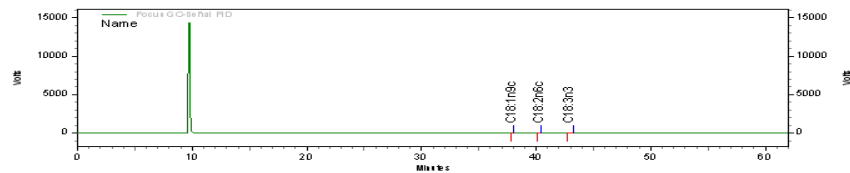
De la dilución de 400 se obtuvo 12 cromatogramas de la semilla de lino canadiense y 12 de la ecuatoriana (Anexo 5) de los cuales se toma dos cromatogramas modelo de los dos tipos de semillas junto con su reporte de ácidos grasos, que se presentan en las figuras siguientes.



**Figura 3.8 Cromatograma de muestra 1 de semilla de lino canadiense con dilución**

**400**

Method Name: C:\ChromQuestEnterprise\Projects\DefaultMethod\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT  
 50.umet  
 Data: C:\ChromQuestEnterprise\Projects\DefaultData\LINAZA CANADIENSE 1 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 4:39:42 PM  
 Printed: 6/4/2014 3:51:03 PM

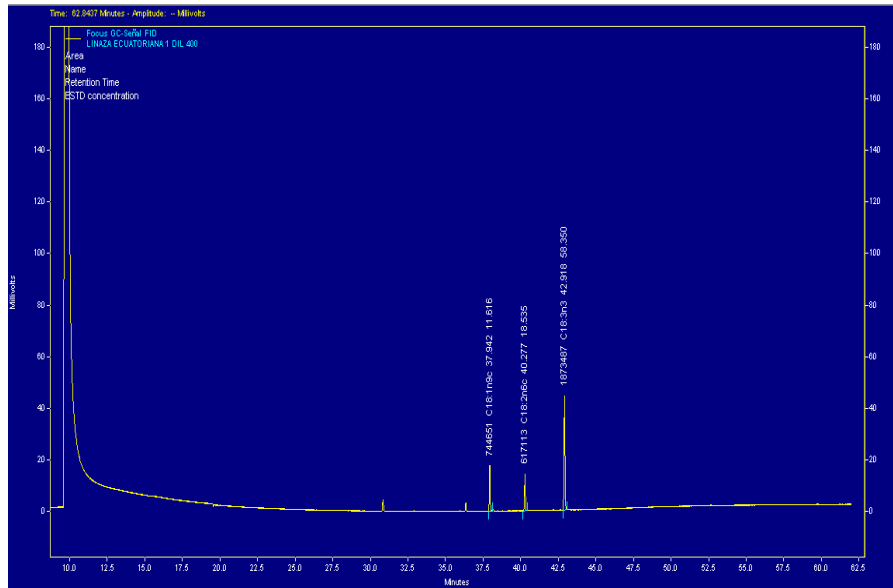


Focus GC - Señal  
 FID Results (System)  
 (6/4/2014 3:41:46  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	721080	11.281
2	C18:2n6c	40.277	548486	16.594
3	C18:3n3	42.918	2003400	62.295

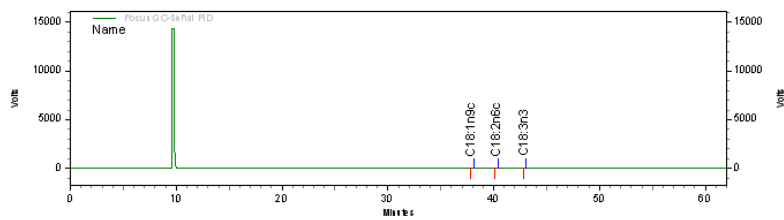
**Figura 3.9 Reporte de ácidos grasos de muestra 1 de semilla de lino canadiense con**

**dilución 400**



**Figura 3.10** Cromatograma de muestra 1 de semilla de lino ecuatoriana con dilución 400

Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA E CUATORIANA 1 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 5:59:06 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:04:16 PM



Focus GC-Senial  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:03:52  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n7c	37.942	744651	11.616
2	C18:2n6c	40.277	617113	18.535
3	C18:3n3	42.918	1873487	58.350

**Figura 3.11** Reporte de ácidos grasos de muestra 1 de semilla de lino ecuatoriana con dilución 400

En los cromatogramas presentados en las Figuras 3.4; 3.6; 3.8 y 3.10 de los dos tipos de semilla de lino, se evidencia los tres picos de interés correspondientes a omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO). Se obtuvo una adecuada resolución y una buena separación en los picos, puesto que están bien definidos y es notorio el principio y el final de cada uno. En la parte superior de cada pico y en las figuras 3.5; 3.7; 3.9; 3.11 se observa lo siguiente:

- El nombre simplificado o notación del ácido graso.
- Las áreas de los picos de cada analito, las cuales se encuentran dentro del rango de las áreas promedio descritas en las tablas: 3.7; 3.8 y 3.9 de las respectivas curvas de calibración.
- Los tiempos de retención experimentales, muy cercanos a los siguientes tiempos de retención definidos con el método cromatográfico desarrollado: Ácido graso alfa linoléico: 43,075min. Ácido graso linolénico omega 6: 40,435min y Ácido graso omega 9: 38,105min.
- El porcentaje % del ácido graso que se obtuvo por interpolación automática en las curvas de calibración de los analitos correspondientes, bajo las condiciones óptimas del método desarrollado, estandarizado y validado.

A continuación se tabulan los resultados de la cuantificación de los ácidos grasos de interés en 100% de grasa, la cantidad de cada ácido graso en el porcentaje real de grasa, el promedio de los datos y las desviaciones estándar.

**Tabla 3.13 Porcentajes de ácido graso alfa linolénico omega 3 en la semilla de lino  
ecuatoriana y canadiense**

Muestra	Porcentaje de ácido graso en 100% de grasa		Porcentaje de ácido graso en % real de grasa	
	Linaza Canadá	Linaza Ecuador	Linaza Canadá	Linaza Ecuador
1	77,222	64,561	30,433	20,350
2	57,330	63,677	21,768	20,358
3	71,165	65,413	26,367	20,952
4	56,290	56,292	22,747	18,886
5	61,309	53,999	23,690	17,118
6	60,983	65,026	22,838	20,119
7	56,673	66,877	21,887	21,575
8	61,314	74,093	23,054	24,147
9	48,763	86,555	19,778	31,437
10	52,269	70,450	21,268	24,023
11	59,791	73,321	24,371	26,491
12	60,389	80,493	21,909	27,867
<b>PROMEDIO</b>	60,292	68,396	<b>23,343</b>	<b>22,777</b>
$\sigma$	7,645	9,295	2,779	4,144

**Tabla 3.14 Porcentajes de ácido graso linoléico omega 6 en la semilla de lino  
ecuatoriana y canadiense**

Muestra	Porcentaje de ácido graso en 100% de grasa		Porcentaje de ácido graso en % real de grasa	
	Linaza Canadá	Linaza Ecuador	Linaza Canadá	Linaza Ecuador
1	16,594	18,535	6,540	5,842
2	12,884	17,774	4,892	5,682
3	16,899	18,103	6,261	5,798
4	16,440	16,675	6,643	5,594
5	13,071	17,242	5,051	5,466
6	15,216	18,766	5,698	5,806
7	12,609	19,444	4,870	6,273
8	14,359	18,794	5,399	6,125
9	11,691	21,229	4,742	7,710
10	13,584	20,681	5,527	7,052
11	15,224	19,242	6,205	6,952
12	15,105	20,056	5,480	6,943
<b>PROMEDIO</b>	14,473	18,878	<b>5,609</b>	<b>6,270</b>
$\sigma$	1,713	1,352	0,668	0,720

**Tabla 3.15 Porcentajes de ácido graso oléico omega 9 en semilla de lino ecuatoriana y canadiense**

Muestra	Porcentaje de ácido graso en 100% de grasa		Porcentaje de ácido graso en % real de grasa	
	Linaza Canadá	Linaza Ecuador	Linaza Canadá	Linaza Ecuador
<b>1</b>	11,281	11,616	4,446	3,661
<b>2</b>	8,729	10,360	3,314	3,312
<b>3</b>	11,599	11,300	4,297	3,619
<b>4</b>	11,404	10,458	4,608	3,509
<b>5</b>	8,837	10,085	3,415	3,197
<b>6</b>	10,112	10,990	3,787	3,400
<b>7</b>	8,702	11,357	3,361	3,664
<b>8</b>	9,771	10,822	3,674	3,527
<b>9</b>	7,925	12,153	3,214	4,414
<b>10</b>	9,178	11,706	3,735	3,992
<b>11</b>	10,437	11,357	4,254	4,103
<b>12</b>	10,184	11,587	3,695	4,011
<b>PROMEDIO</b>	9,847	11,149	<b>3,817</b>	<b>3,701</b>
<b><math>\sigma</math></b>	1,199	0,618	0,474	0,360

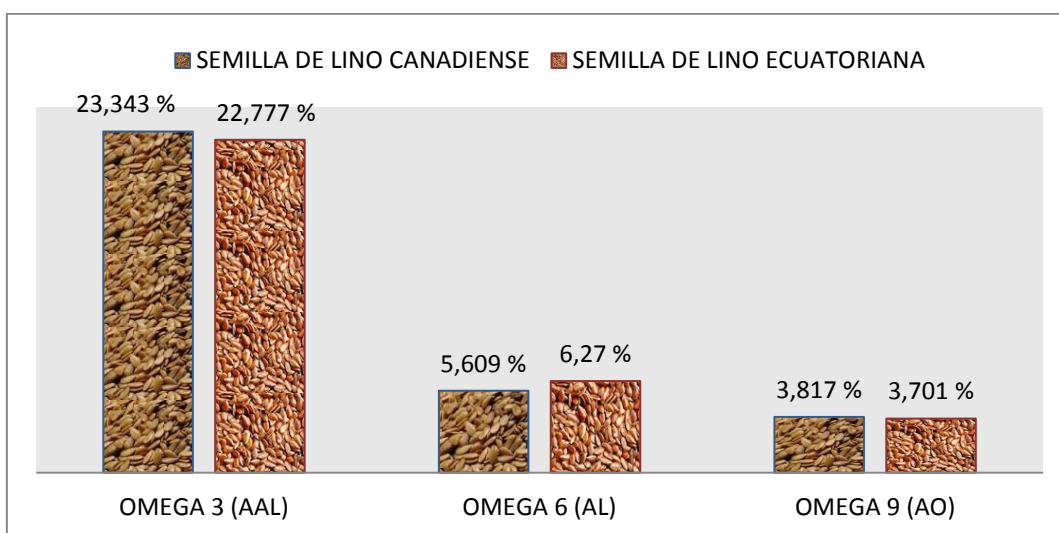
Una de las características únicas de la grasa poliinsaturada de la semilla de lino es la alta cantidad de ácido AAL omega 3, según datos bibliográficos, en 100% de grasa el rango de cantidad de AAL en la semilla de lino oscila entre 53,5 – 85% (McKevith, 2005) (Chen, 2001). De acuerdo a los datos experimentales en la tabla 3.13; en 100% de grasa la semilla de lino canadiense posee en promedio 60% de AAL y la semilla de lino ecuatoriana 68%. Ambos resultados son considerados aceptables al encontrarse dentro del rango bibliográfico. Por otra parte el 60% de AAL de la semilla de lino canadiense es cercano al porcentaje de 61,9% que reporta un estudio similar que evalúa la calidad de semillas de lino (*Linum usitatissimum*) cultivadas en Venezuela comparándolas con semillas de lino canadiense de la misma especie (Cuevas, 2012).

El aceite de semillas de lino es rico en AL omega 6, según datos bibliográficos, en 100% de grasa el rango de cantidad de AL en la semilla de lino está entre 12,7 – 22,4% (McKevith, 2005). De acuerdo a los datos obtenidos en la tabla 3.14; en 100% de grasa la semilla de lino canadiense posee un promedio de 15% de AL y la semilla de lino ecuatoriana 19%. Ambos resultados son considerados aceptables al encontrarse dentro del rango bibliográfico. Al comparar el 15% de AL obtenido en la semilla de lino canadiense con el porcentaje de 16,5% AL de semilla de lino canadiense que lanza el estudio venezolano (Cuevas, 2012), se puede observar cercanía entre resultados.

La semilla de lino también se considera que es fuente de AO omega 9. De acuerdo a la teoría, en 100% de grasa el rango de cantidad de AO en la semilla de lino oscila entre 20,1 – 27,7% (McKevith, 2005). De acuerdo a los datos experimentales en la tabla 3.15, en 100% de grasa la semilla de lino canadiense posee en promedio 10% de AO y la semilla de lino ecuatoriana 11%. Ambos resultados no se encuentran dentro del rango bibliográfico, esto se debe a que los valores de ácido grasos en general pueden variar dependiendo del medio ambiente, el procesamiento de la semilla y el método de análisis utilizado que son factores decisivos que afectan la calidad y cantidad de componentes presentes en la semilla. (Flax Concil of Canada, 2013) (Gallegos, 2008) (InfoAgro, 2014).

En cantidad real de grasa se obtuvo en la semilla de lino canadiense un porcentaje promedio de 23,343% de AAL y en la semilla de lino ecuatoriana 22,777% de AAL. En cuanto a la cantidad de omega 6 (AL) se obtuvo un porcentaje promedio de 5,609% en la semilla de lino canadiense y 6,270% en la semilla de lino ecuatoriana. Con respecto al omega 9 (AO) la semilla de lino canadiense presentó un porcentaje promedio de

3,817% y la semilla de lino ecuatoriana 3,701%, porcentajes los cuales se representan a continuación y se toman en cuenta para cumplir con el objetivo de la disertación que es la comparación de los valores experimentales de ácidos grasos AAL, AL, AO presentes en la semilla de lino nacional con los valores de estos mismos ácidos en la semilla canadiense.



**Figura 3.12 Comparación en barras de porcentajes de ácidos grasos omegas de los dos tipos de semillas de lino**

En la figura 3.12 se observa que la semilla de lino canadiense posee numéricamente mayor cantidad de AAL y AO que la semilla ecuatoriana y la semilla de lino ecuatoriana posee mayor cantidad de AL en comparación con la semilla canadiense. Frente a la evidente cercanía entre datos promedio de la linaza ecuatoriana y canadiense, se realiza un análisis estadístico de significación para llegar a una conclusión sustentada.

### 3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE SIGNIFICACIÓN

Para realizar el análisis estadístico de significación; prueba t de Student, en primera instancia se aplica la prueba F la cual permite establecer si existen o no diferencias significativas entre las varianzas de los datos de ácidos grasos presentes en los dos tipos de semilla de lino, para así escoger si se aplica:

- Prueba t para varianzas que no poseen diferencias significativas
- Prueba t para varianzas que poseen diferencias significativas

#### 3.4.1 PRUEBA F

A continuación se presentan las varianzas que se calcularon aplicando la fórmula 2.20 y tomando en cuenta los datos en % real de grasa de ácidos grasos omega 3 (AAL), omega 6 (AL) y omega 9 (AO) pertenecientes a los dos tipos de semilla de lino (Tabla 3.13; 3.14; 3.15),  $F_{TABULADA}$  se obtuvo de la tabla F de Fisher (Anexo 9) a un nivel de confianza de 95% y  $F_{CALCULADA}$  se obtuvo aplicando la fórmula 2.21.

**Tabla 3.16 Varianzas y resultados de prueba F de los datos de ácidos grasos en las semillas de lino canadiense y ecuatoriana**

Ácidos Grasos		Varianzas (v)	$F_{0,05}$ TABULADA (11 g.l)	$F_{CALCULADA}$	Resultado
Omega 3 (AAL)	Canadá	7,7232177	2,818	2,223	$v_1 = v_2$
	Ecuador	17,170305			
Omega 6 (AL)	Canadá	0,4468078	2,818	1,159	$v_1 = v_2$
	Ecuador	0,5176918			
Omega 9 (AO)	Canadá	0,2247095	2,818	1,736	$v_1 = v_2$
	Ecuador	0,1294113			

A un nivel de confianza de 95% se determinó que las varianzas de los datos de los ácidos grasos omega de la semilla de lino ecuatoriana y canadiense no poseen diferencias significativas, al ser las  $F_{\text{CALCULADAS}}$  menores a la  $F_{\text{TABULADA}}$ . Frente a este resultado se procede a aplicar la prueba t de Student para muestras independientes con varianzas que no poseen diferencias significativas.

### 3.4.2 PRUEBA t PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES CON VARIANCIAS QUE NO POSEEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS

La tabla 3.17 consta de los promedios (en % real de grasa) de cada ácidos grasos de interés presente en la semilla de lino extranjera y nacional (Tabla 3.13; 3.14; 3.15),  $t_{\text{TABULADA}}$  se obtuvo de la tabla t de Student (Anexo 10) con un nivel de confianza de 95% y  $t_{\text{CALCULADA}}$  se obtuvo aplicando la fórmula 2.18 y se confirmó el resultado mediante el programa estadístico computarizado PASW (Statistics Processor).

**Tabla 3.17 Resultados de la prueba t de Student para determinar diferencias significativas entre datos**

Ácidos Grasos		Promedio (%)	$t_{0,05 \text{ TABULADA}}$ (11 g.l)	$t_{\text{CALCULADA}}$	Resultado
Omega 3 (AAL)	Canadá	23,343	1,7959	0,393	H <sub>0</sub> ACEPTADA
	Ecuador	22,777			
Omega 6 (AL)	Canadá	5,609	1,7959	2,333	H <sub>0</sub> RECHAZADA
	Ecuador	6,270			
Omega 9 (AO)	Canadá	3,817	1,7959	0,674	H <sub>0</sub> ACEPTADA
	Ecuador	3,701			

A un nivel de confianza del 95% se determina que existe diferencia significativa entre los valores promedio del ácido linoléico, omega 6, al tener una  $t_{\text{CALCULADA}}$  2,333 mayor a la  $t_{\text{TABULADA}}$  1,7959, por otra parte se obtuvo que no existe diferencia significativa entre los valores promedio de ácido alfa linolénico omega 3 que posee una  $t_{\text{CALCULADA}}$  0,393 menor a la  $t_{\text{TABULADA}}$  1,7959, la misma situación se determinó con el ácido oléico omega 9 que posee una  $t_{\text{CALCULADA}}$  0,674 menor a la  $t_{\text{TABULADA}}$  1,7959.

## CAPÍTULO 4

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

- Las condiciones instrumentales estandarizadas permitieron la separación óptima de los analitos estudiados. El método desarrollado permite cuantificar niveles de concentración de 0,1 a 1,2mg/mL de omega 3 (AAL), omega 6 (AL) y omega 9 (AO) en semilla de lino.
- Los parámetros de validación del método para los tres analitos cumplieron con los criterios de aceptación entre los cuales están: un coeficiente de correlación igual o mayor a 0,995, límites de detección y cuantificación bajos, porcentajes de coeficiente de variación menores al 10% y porcentajes de recuperación entre 80 – 110% por tanto se demostró que el método proporciona resultados adecuados y confiables para su propósito.
- Se concluye y comprueba la alta cantidad de ácidos grasos omega 3 (AAL); 23,343%, omega 6 (AL); 5,609% y omega 9 (AO); 3,817% presentes en la grasa total de la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) canadiense que corresponde al 39% de la muestra.
- Observando los resultados obtenidos, se pone de manifiesto que la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatoriana es también de alta calidad ya que

contiene; 22,777% omega 3 (AAL), 6,270% omega 6 (AL) y 3,701% omega 9 (AO) presentes en la grasa total que corresponde al 33% de la muestra.

- Tras realizar el análisis de varianzas y la prueba t de Student, se concluye que los valores obtenidos de omega 3 (AAL) y 9 (AO) de la semilla de lino ecuatoriana (*Linum usitatissimum*) son estadísticamente iguales a los valores obtenidos de estos mismos ácidos grasos presentes en la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) extranjera, por otra parte se determinó que los valores obtenidos de omega 6 (AL) de la semilla de lino nacional son estadísticamente diferentes a los valores de éste ácido graso presente en la oleaginosa canadiense; siendo mayor el contenido del ácido graso AL en la semilla de lino ecuatoriana.
- Se concluye que la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatoriana posee una igual o mayor calidad en cuanto al contenido de ácidos grasos omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO) en comparación a la semilla de lino canadiense.
- La semilla de lino (*Linum usitatissimum*) nacional, junto a análisis complementarios, puede llegar a ser un suplemento para la población ecuatoriana.

#### **4.2 RECOMENDACIONES**

- Se recomienda consumir semilla de lino nacional ya que, en comparación con la semilla de lino canadiense, presenta una igual o mayor calidad en cuanto a contenido de ácidos grasos alfa linolénico, linoléico y oléico.

- Se recomienda usar n-hexano como solvente para la extracción del aceite de semillas de lino ya que posee alto poder disolvente para lípidos, tiene bajo costo, presenta facilidad para su eliminación total y posee un bajo punto de ebullición (63.3 - 69.5 °C), lo cual facilita la separación del aceite en la semilla de lino molida.
- Se recomienda 6 horas de extracción de grasa de la semilla de lino en el sistema Soxhlet, ya que un tiempo menor no asegura una extracción total.
- Conservar a la semilla de lino en un lugar oscuro y al aceite de la semilla en refrigeración hasta su utilización, con el fin de evitar que sufran oxidación por efecto del aire y de la luz.
- Realizar el proceso de esterificación, dilución y determinación de los ácidos grasos en un mismo día, para evitar cambios de concentración en las muestras de los esteres metílicos de ácidos grasos, los cuales son muy volátiles.
- Para determinar la calidad total de la semilla de lino nacional y comprobar que la semilla de lino puede llegar a ser un suplemento para la población ecuatoriana, se recomienda investigar más a fondo la oleaginosa y en futuras investigaciones realizar análisis complementarios como:
  - ✓ Análisis de calidad microbiana para identificar si se lleva un correcto proceso de cosecha, secado, manipulación y almacenamiento de la semilla.

- ✓ Análisis de humedad y ceniza para determinar la materia seca y el contenido mineral total.
- ✓ Análisis de fibra dietética, predominante en las semillas enteras de lino.
- ✓ Análisis de proteínas y determinación de aminoácidos.
- ✓ Análisis de perfil lipídico completo incluyendo isómeros cis y trans, ácidos grasos saturados, monosaturados y poliinsaturados que se pueden determinar mediante cromatografía de gases con espectroscopía de masas (CG-MS).
- ✓ Determinación de minerales.
- ✓ Determinación de vitaminas en la semilla.
- ✓ Análisis de compuestos fenólicos como lignanos.
- ✓ Realización de un tamizaje fitoquímico de la semilla de lino para identificar que otros compuestos posee.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

AOAC (2012), *Official Methods of Analysts of the Association of AOAC International*, 19<sup>a</sup> edition, USA.

Alzate C., Castaño C., Gómez B., Pineda A., Marín B. (2010), *Efecto del consumo de linaza en el perfil lipídico, el control del cáncer y como terapia de reemplazo hormonal en la menopausia; una revisión sistemática de ensayos clínicos aleatorizados*, Universidad de Antioquia, Colombia.

Ander BP., Weber A., Rampersad P. (2004), *Dietary flaxseed protects against ventricular fibrillation induced by ischemia-reperfusion in normal and hypercholesterolemic rabbits*, American Society for Nutrition, Journal of Nutrition, USA.

Bartrina J., Hernandez A. (2010), *Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil*, 4<sup>a</sup> edición, Editorial Medica Panamericana, Madrid.

Benavides F. (2004), *Evaluación preliminar de una bebida tradicional de linaza (Linum usitatissimum) saborizada*, Universidad Zamorano, Honduras.

Bautista M., Matinez A., Martinez C., Camarena A., Guzman M., Zanella V., Gamiño Z. (2008), *Propiedades Funcionales y Valor nutritivo de panes integrales con Chía y Linaza*, Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico.

Bobé G. (2013), *Las vacas alimentadas con linaza producen leche con omega 3*, <http://elproductor.com/2013/02/11/las-vacas-alimentadas-con-linaza-producen-leche-con-omega-3/>, 26 de noviembre del 2013.

Bender D. (1993), *Introducción a la Nutrición y el Metabolismo*. 2ª edición, Editorial Acribia. España.

Calvo M., (2004). *Bioquímica de los Alimentos*, Universidad de Zaragoza, España.

Cano J. (2008). *Clasificación de ácidos grasos*, <http://www.boloncol.com/boletin-25/mecanismos-funcion-y-obtencion-de-alimentos-enriquecidos-con-acidos-grasos-omega-3.html>, 27 de julio del 2013.

Canadian Grain Commission. (2001). *Nutritional profile of no. 1 Canada Western flaxseed and of yellow flaxseed samples*. <http://www.grainscanada.gc.ca/index-eng.htm>, 4 de febrero del 2014.

Cuevas, Z. Sangronis, E. (2012), *Caracterización de semillas de linaza (Linum usitatissimum L. cultivadas en Venezuela*, Órgano oficial de la sociedad latinoamericana de nutrición, Venezuela.

Cunnane SC., Thompson IU, (1995), *Flax: Some Historical Considerations in Flaxseed in Human Nutrition*, Editors AOCS Press, Champaign, Illinois.

Chen T., Yi Hsu J. (2001), *Polyunsaturated Fatty Acid Concentrates from Borage and Linseed Oil Fatty Acids*. Journal of Americal Oil Chemists' Society, USA.

Castillo F., Sentis F. (1996), *Agrometeorología*, Mundi-Prensa Libros S.A, Madrid.

Consejo Superior de Investigaciones Cientificas. (2008). *Cromatografía de gases*, [http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES//investigacion/cromatografia/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES//investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf), 27 de agosto del 2013.

Centeno A., Quishpe C. (2012), *Utilización de semilla de linaza como suplemento alimenticio en la fase de crecimiento y engorde de cuyes en el centro experimental y de producción Salache (CEYPSA)*, Universidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Ecuador.

Cases M., Hens A. (2007), *Métodos de Separación*, Editorial Reverté, España.

Dufour A., Festy D. (2007), *La revolución de los Omega 3*, Ediciones Robinbook, Barcelona.

Devinar M., Lassaga S., Milisich H., Green A. (2010), *Determinación molecular de dos mutaciones involucradas en la desaturación del ácido linoleico en *Linum usitatissimum**, Universidad Nacional de Entre Rios, Uruguay.

Diaz G., Betancourt L. (2009). *Enriquecimiento de huevos con ácidos grasos Omega 3 mediante la suplementación con semilla de lino (*Linum usitatissimum*) en la dieta*, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

Ecuador Agricultura. (2013), *Semillas de lino en el Ecuador*, <http://ecuador.acambiode.com/empresas?find=linaza>, 15 de abril del 2013.

FAO: Food and Agricultural Organization of United Nations. (2008), *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana*; Consulta de expertos, Fundación Iberoamericana de Nutrición, España.

Flax Council of Canada. (2013). *Canadian Flaxseed*, <http://www.flaxcouncil.ca/spanish/index.jsp?p=espanol>, 30 de julio de 2013.

Figuerola F., Muñoz O., Estévez A. (2008), *La linaza como fuente de compuestos bioactivos para la elaboración de alimentos*, Universidad Austral de Chile, Chile.

Figuerola, F. (2008), *Linaza*, <http://es.scribd.com/doc/109580861/Parte-1>, 29 de julio del 2013.

Fornaguera J., Gomez G. (2007), *Bioquímica: La ciencia de la vida*, Editorial EUNED, Costa Rica.

Gil A. (2010), *Tratado de Nutrición*, 2<sup>a</sup> edición, Editorial Médica Panamericana, Madrid.

García G. (2012), *Alimentos que ayudan a prevenir y combatir enfermedades*. Palibrio, USA.

Gallegos W. (2008), *Manual de Parámetros Técnicos para el cultivo del lino (Linum Usitatissimum)*, Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), Ecuador.

Guarnizo A., Martínez P. (2009), *Experimentos de Química Orgánica: Con enfoque en ciencias de la vida*, Ediciones Elizcom, Colombia.

Gutiérrez J. (2000), *Ciencia Bromatológica; Principios generales de los alimentos*, Editoriales Díaz de Santos, España.

Gallego R. (2003), *Introducción al análisis de datos experimentales: Tratamiento de datos*, Universidad Jaume I Castelló, España.

HOY Noticias del Ecuador y el mundo. (2008), *La semilla del lino “mejora la salud” de tiendas naturistas*, <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/la-semilla-del-lino-mejora-la-salud-de-tiendas-naturistas-293372.html>, 22 de enero del 2014.

Hernández D. (2010), *Desarrollo de métodos quimiométricos mediante espectroscopia FTIR-HATR para cuantificar parámetros químicos y perfil de ácidos grasos*. Instituto Politécnico Nacional, México D. F.

Herrera M., Vega y León S., Tolentino R., Fernández B., González G. (2006). *Los ácidos grasos omega 3 y omega 6: Nutrición, Bioquímica y Salud*. [http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2006/03/e\\_AcidosGrasos.pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2006/03/e_AcidosGrasos.pdf), 13 de abril 2014.

Harris D.C. (2003). *Quantitative chemical analysis*. W.H. Freeman, San Francisco.

Hazbúm J., Villarroel M. (2006), *Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (Linum usitatissimum)*, Universidad de la Frontera, Chile.

IUPAC (1992). *Standard Method 2.301. Preparation of the fatty acid methyl esters*. In *Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives*, 7<sup>a</sup> edition. International Union of Pure and Applied Chemistry, Oxford, UK

InfoAgro. (2014). *Cultivo de lino*, [www.infoagro.com](http://www.infoagro.com), 25 de agosto del 2014.

Instituto de Salud Pública. (2010), *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos*, Departamento de Salud Ambiental, Santiago de Chile.

ISO (International Organization for Standardization), (2001). *Animal and vegetable fats and oils ISO 5509:2000: Preparation of methyl esters of fatty acids*, USA.

ISO (International Organization for Standardization) 17025:2005, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*, ISO/CASCO Committee on conformity assessment, USA.

Lamarque D., Maestri D., Zygadlo J., Labuckas D., Lopez L., Torres M. (2008), *Fundamentos Teórico – Práctico de Química Orgánica*, 1ª edición, Grupo Editor Encuentro, Argentina.

Leclerc G., Buffoon L., Gaspar., Roig. (1867), *Los tres reinos de la naturaleza o museo pintoresco de historia natural: Botánica*, 4ª edición, Editores Calle del Principe, Madrid.

Laubsch H. (1979), *Con la brocha y la pintura*, Editorial Reverté S.A, Barcelona.

McKevith B. (2005), *Nutritional aspects of oilseeds*, Nutrition Bulletin, USA.

Melo V., Cuamatzi O. (2006). *Bioquímica de los procesos metabólicos*, Editorial Reverté, Barcelona.

Morris DH., Vaisey – Genserb M. (2003), *Availability and Labeling of Flaxseed Food*, Editors P.S, USA.

Menegati G., Cohen L., Carvalho de Mattos F., Paes de Miranda M., Rosado E. (2012), *Can Flaxseed help satisfy appetite in women subjected to bariatric surgery*, Universidad Federal de Rio de Janeiro, Brasil.

Morales A. (2004), *Frutoterapia y Belleza*, Editorial Edaf, Colombia.

Morris D. (2007), *Linaza: Recopilación sobre sus efectos en la salud y nutrición*, 4<sup>a</sup> edición, Flax Council Of Canadá, Canadá.

Miller J.C., Miller J.N. (1993), *Estadística para Química Analítica*, 2<sup>a</sup> edición, Addison – Wesley Iberoamericana, USA.

Macedo G. (2007), *Efecto de la ingesta de una papilla preparada con harina de linaza sobre el índice de peso para la talla en lactantes altoandinos de Huánuco*, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

McMurry, J. (2012), *Química Orgánica*, 8<sup>a</sup> edición, Editores Cengage Learning, USA

Montero A., Crespo V., Sastre G., Begoña R. (2003), *Estudio de transesterificación de aceite vegetal con metanol*,  
<http://ciencia.urjc.es/bitstream/10115/686/1/PFC%20ALISEDA%20MONTERO.pdf>,  
01 de enero del 2014.

Olavarría E. (2012), *Caracterización funcional de harinas de linaza y su uso en barras de cereales*, Universidad de Chile, Chile.

Peña., Arroyo., Gómez., Tapia. (2004), *Bioquímica*, Editorial Limusa, México.

Pitchford P. (2007), *Sanando con alimentos integrales; Tradiciones asiáticas y nutrición moderna*, Noth Atlantic Books, Edición Ilustrata, USA.

Pszczola D. (2002), *Ingredient developments for frozen desserts*. Food Technal, AOCS press, Illinois.

Pazos. (2002), *Frescos*,  
[http://www.terraecuador.net/allimicuna/16\\_allimicuna\\_frescos.htm](http://www.terraecuador.net/allimicuna/16_allimicuna_frescos.htm), 21 de noviembre del 2013.

Quirós M. (2006), *Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases*, 10<sup>a</sup> edición, Editorial UCR, Costa Rica.

REGLAMENTO (CE) n° 2568/91. (2002). Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, ANEXO X “B”: Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos. pag. 54. MÉTODO A: Análisis de ésteres metílicos de los ácidos grasos mediante cromatografía de gases Método A. pág. 45.

Ruiz M. (2011). *Clasificación de lípidos*, <http://mariorivasruiz.blogspot.com/>, 12 de julio de 2013.

Salagata H. (2010), *Evaluación de la calidad de yogurt tipo II con la utilización de gel de linaza como estabilizante natural*, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.

Sánchez J. (2014), *Introducción a la Estadística en las Ciencias Biológicas*, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.

Sánchez J. (2004), *Biología*, Editorial Mad, S.L., España.

Soler J. (2007), *Nutrición Energética y Salud*, Editorial debolsillo, Barcelona.

Skoog D., Holler J., Crouch S. (2008), *Principios de Análisis Instrumental*, 6<sup>a</sup> edición, Editorial Cengage Learning, Mexico.

Tribole E. (2007), *Omega 3: La dieta esencial*, Grupo Editorial Norma, Bogotá.

Toapanta. (2010), Alimentación de codornices para aumentar el contenido de ácido alfa linoléico omega 3 en los huevos de consumo, <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2603/1/T-ESPE-IASA%20I-004281.pdf>, 22 de julio del 2014.

Thompson LU., Cunanne SC. (2003), *Flaxseed in Human Nutrition*. AOCS Press Editors, Champaign, Illinois.

Velásquez G. (2006), *Fundamentos de alimentación saludable*, Editorial Universidad de Antioquia, Colombia.

Vaisey G., Morris M. (2003), *Flax: The Genus Linum : History of the cultivation and uses of flaxseed*, Muir and Westcott edition, Inglaterra.

Verdini R. (2013), *Análisis de Grasas en los Alimentos*, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

Vergara W. (2010), *Industrialización y Comercialización de la linaza, Tecnología en administración de sistemas de calidad*, Instituto Tecnológico Corporativo Edwards Deming, Ecuador.

Valenzuela A. (2012), *Grasas y Aceites en la Nutrición Humana*, Universidad de los Andes, Santiago de Chile.

Yagiües G. (2008), *Cromatografía: Principios Generales*, <http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8246/7/T2cromagraf.pdf>, 25 de marzo del 2014.

Zhao G., Etherton T., Matin K., West S., Gilles P. (2007), *Dietary alpha linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women*, American Society of Nutrition, Journal of Nutrition, USA.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### CALCULOS ADICIONALES DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR ACIDOS GRASOS OMEGA 3, 6 Y 9 EN SEMILLA DE LINO

#### PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ESTANDAR PARA LA CURVA

*Preparación de solución madre*

$$V_{FAMES} = V_{SM} * \frac{C_{SM}}{C_{FAMES}}$$

$$V_{FAMES} = 5000 \mu L * \frac{1.2 \text{ mg/mL}}{10 \text{ mg/mL}}$$

$$V_{FAMES} = 600 \mu L$$

*Preparación de soluciones de trabajo*

$$V_{SM} = V_{SOLUCION DE TRABAJO} * \frac{C_{SOLUCION DE TRABAJO}}{C_{SM}}$$

$$V_{SM} = 1000 \mu L * \frac{0,1 \text{ mg/mL}}{1.2 \text{ mg/mL}} = 83 \mu L$$

$$V_{SM} = 1000 \mu L * \frac{0,6 \text{ mg/mL}}{1.2 \text{ mg/mL}} = 500 \mu L$$

$$V_{SM} = 1000 \mu L * \frac{0,3 \text{ mg/mL}}{1.2 \text{ mg/mL}} = 250 \mu L$$

$$V_{SM} = 1000 \mu L * \frac{0,9 \text{ mg/mL}}{1.2 \text{ mg/mL}} = 750 \mu L$$

LIMITE DE DETECCIÓN Y LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

$$LC = 10 \sigma_0$$

$$LD = 3 \sigma_0$$

	<b>OMEGA 3</b>	<b>OMEGA 6</b>	<b>OMEGA 9</b>
1	0,044	0,034	0,030
2	0,043	0,033	0,029
3	0,040	0,031	0,028
4	0,041	0,035	0,030
5	0,041	0,031	0,030
6	0,041	0,033	0,028
7	0,041	0,031	0,030
8	0,040	0,032	0,027
9	0,041	0,033	0,031
10	0,040	0,032	0,031
<b>PROMEDIO</b>	0,0412	0,0325	0,0294
<b><math>\sigma_0</math></b>	0,001316561	0,001354006	0,001349897
<b>LD</b>	0,003949684	0,004062019	0,004049691
<b>LC</b>	0,013165612	0,013540064	0,013498971

REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100$$

## REPETITIVIDAD

### OMEGA 3

#### DIA 1

Concentración mg/mL	ÁREA ω 3 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	129065,00	130384,00	129724,50	932,67	0,72
0,3	297134,00	304712,00	300923,00	5358,46	1,78
0,6	718289,00	736274,00	727281,50	12717,32	1,75
0,9	1095313,00	1123332,00	1109322,50	19812,42	1,79
1,2	1548136,00	1468531,00	1508333,50	56289,24	3,73

#### DIA 2

Concentración mg/mL	ÁREA ω 3 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 2 a	Día 2 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	131940,00	130311,00	131125,50	1151,88	0,88
0,3	295875,00	297388,00	296631,50	1069,85	0,36
0,6	704790,00	746883,00	725836,50	29764,25	4,10
0,9	1176694,00	1199052,00	1187873,00	15809,49	1,33
1,2	1477376,00	1475489,00	1476432,50	1334,31	0,09

#### DIA 3

Concentración mg/mL	ÁREA ω 3 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 3 a	Día 3 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	133684,00	138012,00	135848,00	3060,36	2,25
0,3	306958,00	291611,00	299284,50	10851,97	3,63
0,6	755068,00	716787,00	735927,50	27068,75	3,68
0,9	1154712,00	1175989,00	1165350,50	15045,11	1,29
1,2	1620091,00	1520484,00	1570287,50	70432,79	4,49

## OMEGA 6

### DIA 1

Concentración mg/mL	ÁREA ω 6 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	146087,00	150919,00	148503,00	3416,74	2,30
0,3	335856,00	345389,00	340622,50	6740,85	1,98
0,6	794180,00	812463,00	803321,50	12928,03	1,61
0,9	1182955,00	1224479,00	1203717,00	29361,90	2,44
1,2	3260163,00	3155009,00	3207586,00	74355,11	2,32

### DIA 2

Concentración mg/mL	ÁREA ω 6 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 2 a	Día 2 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	153656,00	154390,00	154023,00	519,02	0,34
0,3	327537,00	339059,00	333298,00	8147,28	2,44
0,6	781803,00	810540,00	796171,50	20320,13	2,55
0,9	1259129,00	1282138,00	1270633,50	16269,82	1,28
1,2	1596539,00	1593694,00	1595116,50	2011,72	0,13

### DIA 3

Concentración mg/mL	ÁREA ω 6 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 3 a	Día 3 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	165777,00	152156,00	158966,50	9631,50	6,06
0,3	334416,00	331142,00	332779,00	2315,07	0,70
0,6	824182,00	791968,00	808075,00	22778,74	2,82
0,9	1269509,00	1274441,00	1271975,00	3487,45	0,27
1,2	1712566,00	1643233,00	1677899,50	49025,83	2,92

## OMEGA 9

### DIA 1

Concentración mg/mL	ÁREA ω 9 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 1 a	Día 1 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	296526,00	297552,00	297039,00	725,49	0,24
0,3	671909,00	692531,00	682220,00	14581,96	2,14
0,6	1576681,00	1607583,00	1592132,00	21851,01	1,37
0,9	2365398,00	2431164,00	2398281,00	46503,58	1,94
1,2	3260163,00	3155009,00	3207586,00	74355,11	2,32

### DIA 2

Concentración mg/mL	ÁREA ω 9 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 2 a	Día 2 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	302301,00	297672,00	299986,50	3273,20	1,09
0,3	653078,00	666917,00	659997,50	9785,65	1,48
0,6	1554046,00	1632872,00	1593459,00	55738,40	3,50
0,9	2505243,00	2554306,00	2529774,50	34692,78	1,37
1,2	3189899,00	3170488,00	3180193,50	13725,65	0,43

### DIA 3

Concentración mg/mL	ÁREA ω 9 (mV)		ESTADISTICOS		
	Día 3 a	Día 3 b	PROMEDIO $\bar{X}$	$\sigma$	%CV
0,1	303056,00	306949,00	305002,50	2752,77	0,90
0,3	674825,00	658246,00	666535,50	11723,12	1,76
0,6	1629287,00	1584976,00	1607131,50	31332,61	1,95
0,9	2527534,00	2538141,00	2532837,50	7500,28	0,30
1,2	3407216,00	3270204,00	3338710,00	96882,11	2,90

## REPRODUCIBILIDAD

### OMEGA 3

CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	129724,50	131125,50	135848,00	132232,67	3208,38	<b>2,43</b>
<b>0,3</b>	300923,00	296631,50	299284,50	298946,33	2165,64	<b>0,72</b>
<b>0,6</b>	727281,50	725836,50	735927,50	729681,83	5456,95	<b>0,75</b>
<b>0,9</b>	1109322,50	1187873,00	1165350,50	1154182,00	40448,69	<b>3,50</b>
<b>1,2</b>	1508333,50	1476432,50	1570287,50	1518351,17	47722,69	<b>3,14</b>

### OMEGA 6

CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	148503,00	154023,00	158966,50	153830,83	5234,40	<b>3,40</b>
<b>0,3</b>	340622,50	333298,00	332779,00	335566,50	4386,31	<b>1,31</b>
<b>0,6</b>	803321,50	796171,50	808075,00	802522,67	5991,82	<b>0,75</b>
<b>0,9</b>	1203717,00	1270633,50	1271975,00	1248775,17	39027,28	<b>3,13</b>
<b>1,2</b>	1605537,50	1595116,50	1677899,50	1626184,50	45088,58	<b>2,77</b>

### OMEGA 9

CONC mg/mL	Promedios de áreas (mV)			Área Promedio (mV)	$\sigma$	% CV
	Día 1	Día 2	Día 3			
<b>0,1</b>	297039,00	299986,50	305002,50	300676,00	4026,28	<b>1,34</b>
<b>0,3</b>	682220,00	659997,50	666535,50	669584,33	11420,66	<b>1,71</b>
<b>0,6</b>	1592132,00	1593459,00	1607131,50	1597574,17	8303,44	<b>0,52</b>
<b>0,9</b>	2398281,00	2529774,50	2532837,50	2486964,33	76817,29	<b>3,09</b>
<b>1,2</b>	3207586,00	3180193,50	3338710,00	3242163,17	84726,36	<b>2,61</b>

## EXACTITUD

### PREPARACIÓN DE 3 SOLUCIONES FORIFICADAS

$$V_{SM} = V_{SOLUCION DE TRABAJO} * \frac{C_{SOLUCION DE TRABAJO}}{C_{SM}}$$

$$V_{SM} = 1000\mu L * \frac{0,2mg/mL}{1,2mg/mL} = 167\mu L$$

$$V_{SM} = 1000\mu L * \frac{0,4mg/mL}{1,2mg/mL} = 333\mu L$$

$$V_{SM} = 1000\mu L * \frac{0,6mg/mL}{1,2mg/mL} = 500\mu L$$

$$R = \left( \frac{C_e - C_o}{C_a} \right)$$

$$\%R = R \times 100$$

### OMEGA 3

Concentración Teórica (C <sub>a</sub> ) mg/mL	Concentración Blanco (C <sub>0</sub> ) mg/MI	Concentración Experimental (C <sub>e</sub> ) mg/mL	%R
0,2	0,041	0,150	54,500
0,2	0,041	0,201	80,000
0,2	0,041	0,234	96,500
0,2	0,041	0,230	94,500
0,2	0,040	0,222	91,000
0,2	0,041	0,187	73,000
		PROMEDIO	81,583

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,4	0,041	0,398	89,250
0,4	0,041	0,360	79,750
0,4	0,041	0,370	82,250
0,4	0,041	0,360	79,750
0,4	0,040	0,537	124,250
0,4	0,041	0,350	77,250
<b>PROMEDIO</b>			<b>88,750</b>

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,6	0,041	0,550	84,833
0,6	0,041	0,567	87,667
0,6	0,041	0,678	106,167
0,6	0,041	0,626	97,500
0,6	0,040	0,589	91,500
0,6	0,041	0,561	86,667
<b>PROMEDIO</b>			<b>92,389</b>

OMEGA 6

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,2	0,034	0,222	94,000
0,2	0,033	0,276	121,500
0,2	0,031	0,188	78,500
0,2	0,035	0,173	69,000
0,2	0,031	0,231	100,000
0,2	0,033	0,190	78,500
<b>PROMEDIO</b>			<b>90,250</b>

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,4	0,034	0,465	107,750
0,4	0,033	0,412	94,750
0,4	0,031	0,399	92,000
0,4	0,035	0,354	79,750
0,4	0,031	0,476	111,250
0,4	0,033	0,411	94,500
<b>PROMEDIO</b>			<b>96,667</b>

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,6	0,034	0,612	96,333
0,6	0,033	0,657	104,000
0,6	0,031	0,589	93,000
0,6	0,035	0,545	85,000
0,6	0,031	0,544	85,500
0,6	0,033	0,598	94,167
<b>PROMEDIO</b>			<b>93,000</b>

OMEGA 9

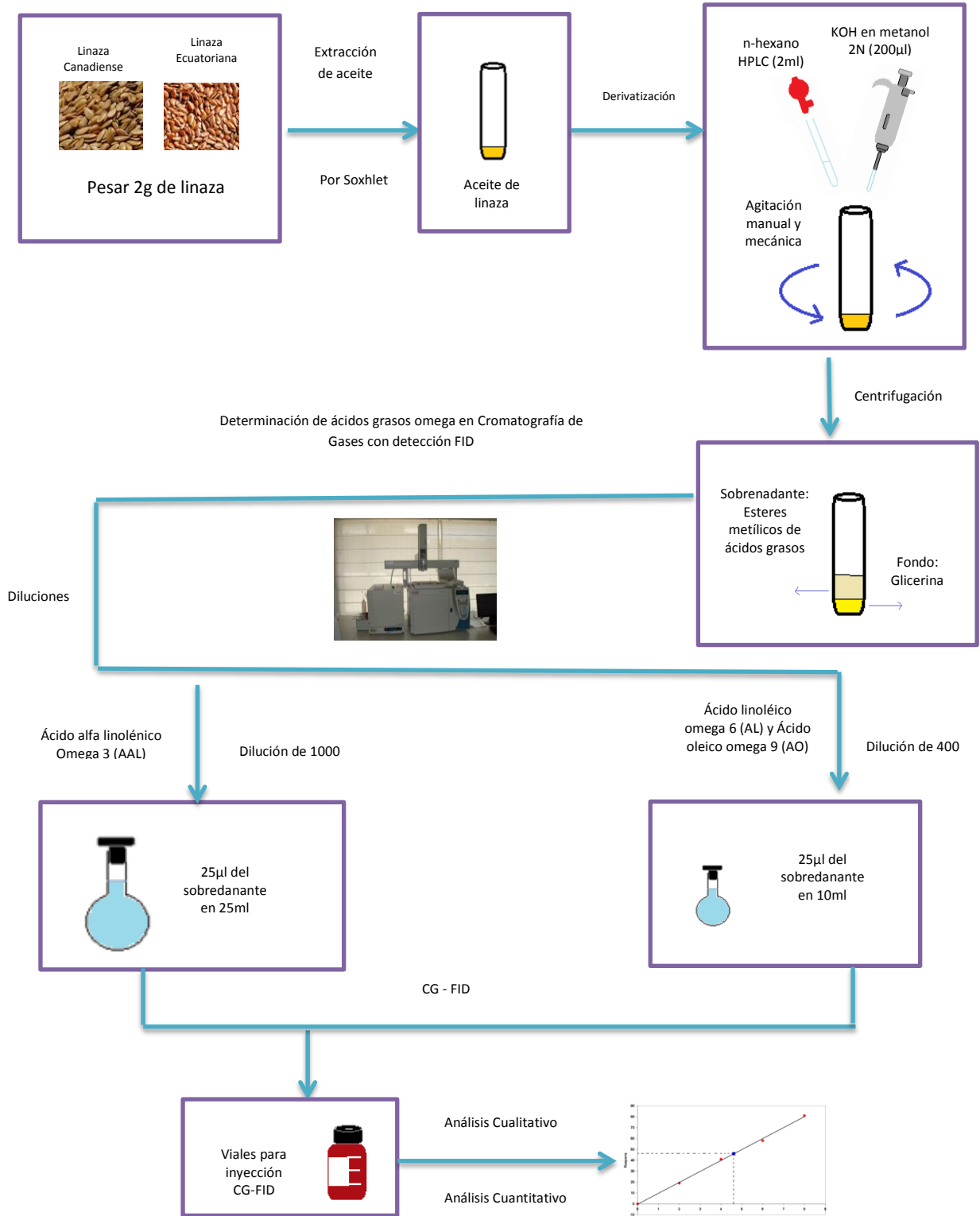
<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,2	0,028	0,167	69,500
0,2	0,030	0,196	83,000
0,2	0,027	0,166	69,500
0,2	0,031	0,221	95,000
0,2	0,031	0,175	72,000
0,2	0,002	0,198	98,000
<b>PROMEDIO</b>			<b>81,167</b>

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,4	0,028	0,398	92,500
0,4	0,030	0,421	97,750
0,4	0,027	0,411	96,000
0,4	0,031	0,500	117,250
0,4	0,031	0,407	94,000
0,4	0,002	0,365	90,750
<b>PROMEDIO</b>			<b>98,042</b>

<b>Concentración Teórica (C<sub>a</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Blanco (C<sub>0</sub>) mg/mL</b>	<b>Concentración Experimental (C<sub>e</sub>) mg/mL</b>	<b>%R</b>
0,6	0,028	0,587	93,167
0,6	0,030	0,555	87,500
0,6	0,027	0,554	87,833
0,6	0,031	0,666	105,833
0,6	0,031	0,588	92,833
0,6	0,002	0,643	106,833
<b>PROMEDIO</b>			<b>95,667</b>

# ANEXO 2

## DIAGRAMA GRÁFICO



## ANEXO 3

### CERTIFICADO DE LA VARIEDAD DE LINO CULTIVADA EN EL ECUADOR

	<b>Pontificia Universidad Católica del Ecuador</b>	Av. 12 de Octubre 1076 y Roca Apartado postal 17-01-2184 Fax: 593 - 2 - 2991 - 687 Telf: 593 - 2 - 299 1 - 714 Quito - Ecuador
HERBARIO QCA		
		Quito, 28 de Agosto de 2014
<b>CERTIFICADO</b>		
<b>A QUIEN INTERESE</b>		
En base a la revisión de la colección y la base de datos del Herbario QCA, certifico que dentro de la familia LINACEAE existen especímenes de las especies <i>Linum usitatissimum</i> L., registrada en el Ecuador continental; y <i>Linum harlingii</i> Eliasson registrada para las islas Galápagos.		
Atentamente,		
		
Dra. Katya Romoleroux, Ph. D Directora del Herbario QCA Escuela de Ciencias Biológicas		

## ANEXO 4

### ANÁLISIS TAXONÓMICO DE PLANTA DE LINO ECUATORIANA



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

HERBARIO QCA

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca  
Apartado postal 17-01-2184  
Fax: 593 - 2 - 2991 - 687  
Telf: 593 - 2 - 299 1 - 714  
Quito - Ecuador

Quito, 28 de Agosto del 2014

#### CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

#### *Linum usitatissimum* L.

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Linaceae DC. ex Perleb
- Género: *Linum* L.
- Especie: *usitatissimum* L.
- Nombre común: lino

A handwritten signature in blue ink, reading 'Álvaro J. Pérez', written over a horizontal line.

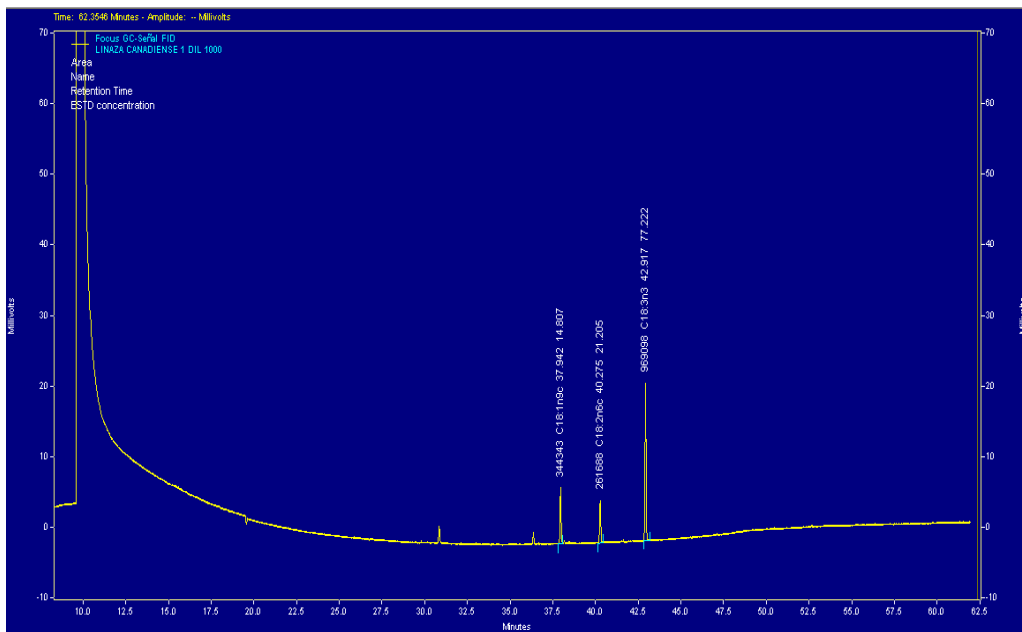
Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas Herbario QCA

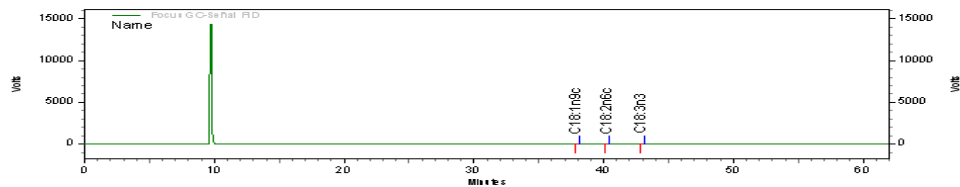
# ANEXO 5

## CROMATOGRAMAS

### 1. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



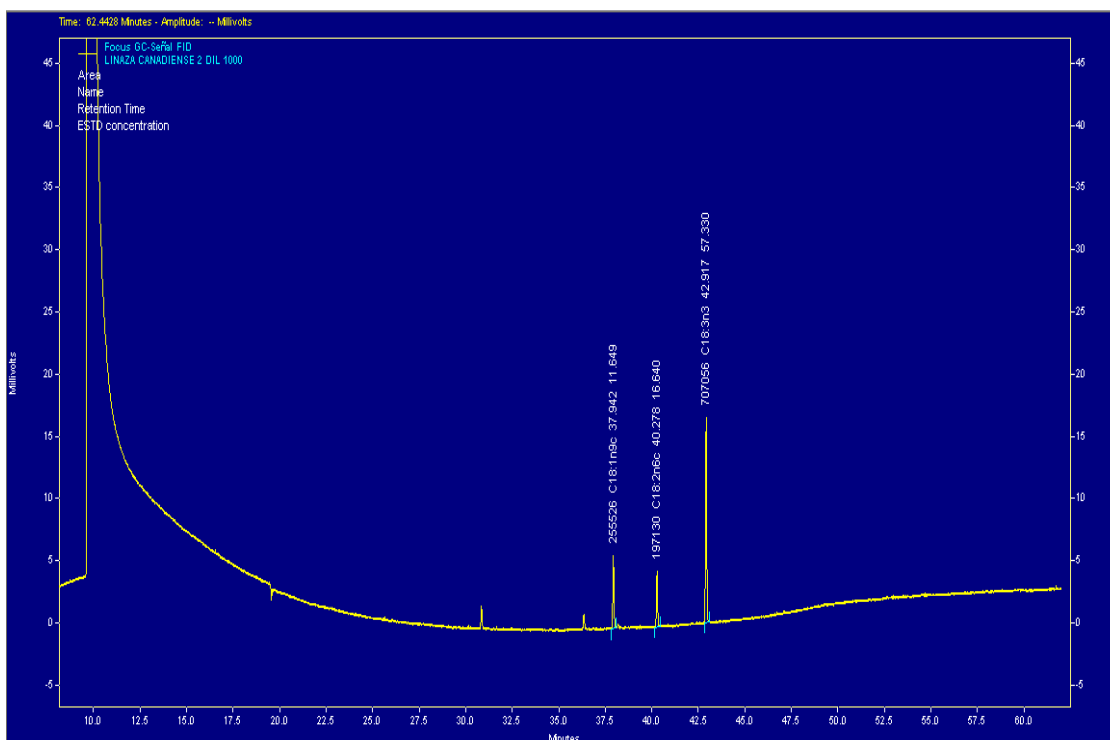
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT  
**50.met**  
**Date:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 1 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 1:42:18 AM  
**Printed:** 6/4/2014 4:14:42 PM



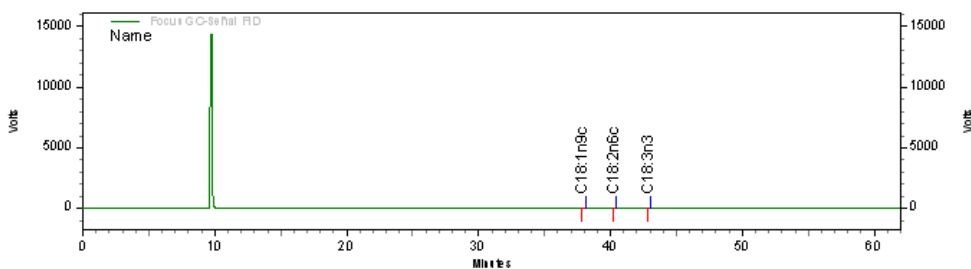
**Focus GC.-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:14:12**  
**PM) (Reprocessed))**

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n7c	37.942	344343	14.807
2	C18:2n6c	40.275	261688	21.205
3	C18:3n3	42.917	969098	77.222

## 2. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 2 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



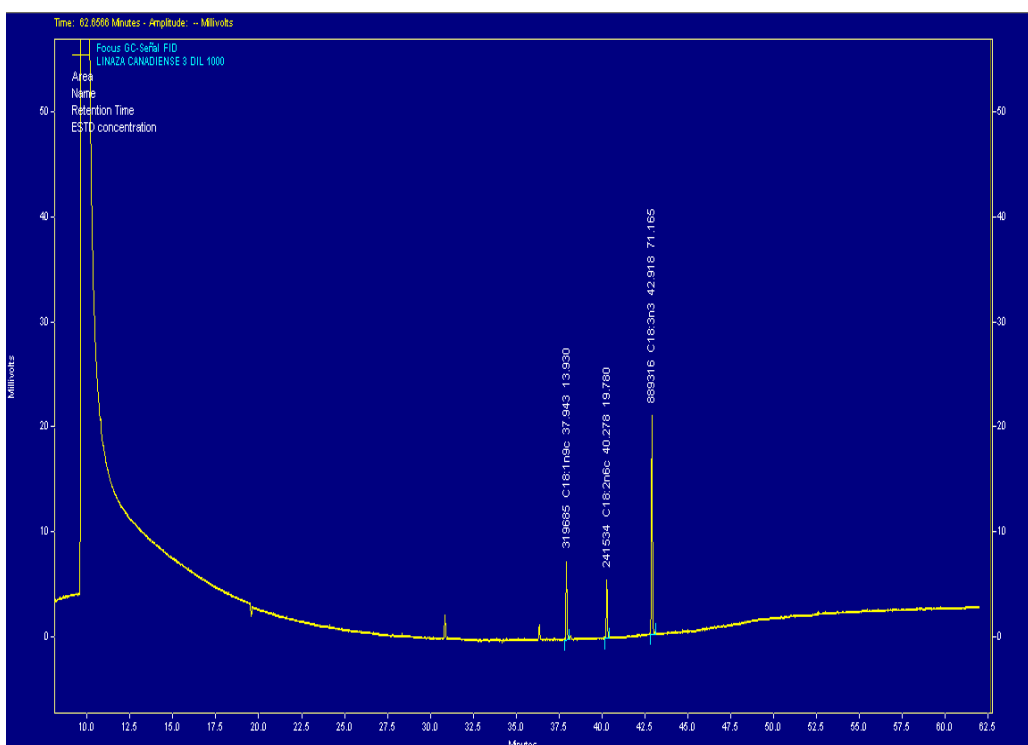
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 2 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 2:48:54 AM  
 Printed: 6/4/2014 5:08:25 PM



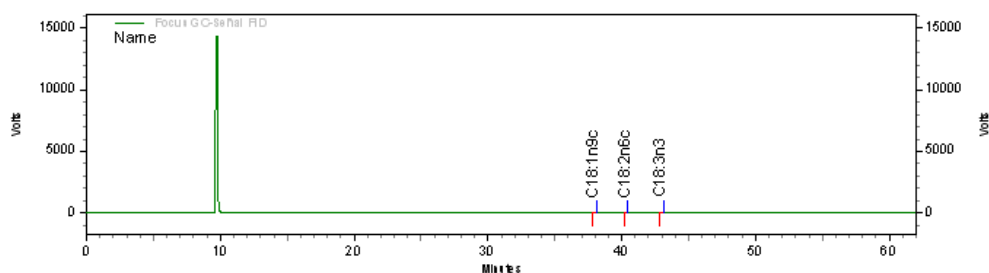
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:07:58  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	255526	11.649
2	C18:2n6c	40.278	197130	16.640
3	C18:3n3	42.917	707056	57.330

### 3. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 3 DE LINAZA CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



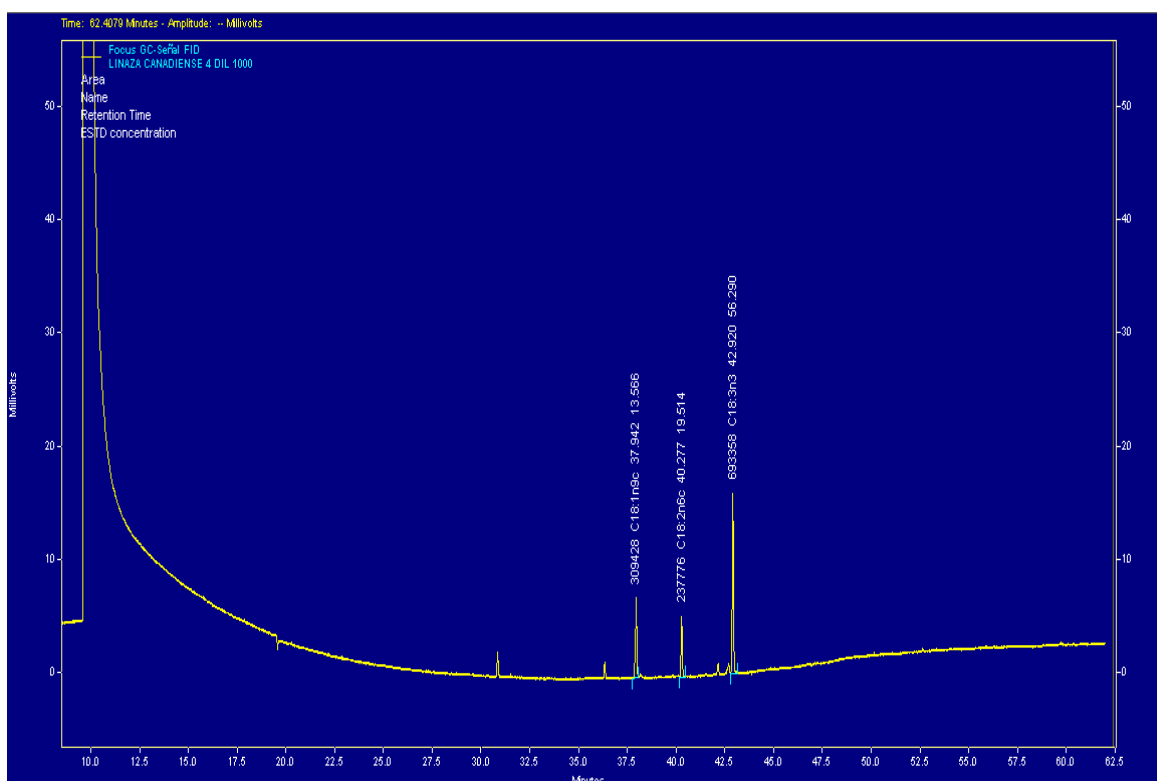
Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL\A\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 3 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 3:55:35 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:21:18 PM



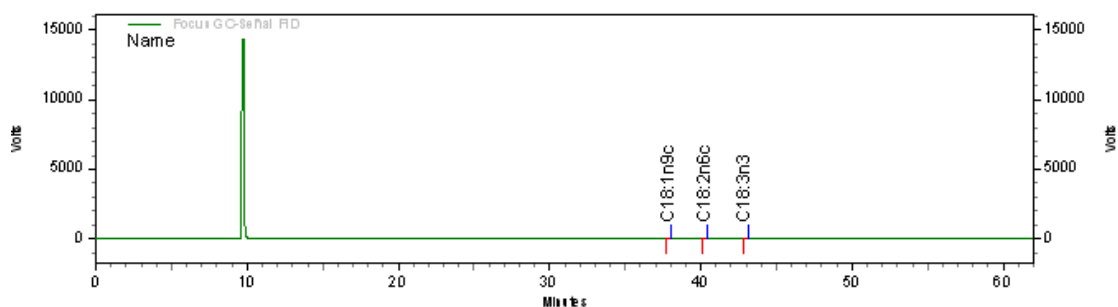
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:20:48  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	319685	13.930
2	C18:2n6c	40.278	241534	19.780
3	C18:3n3	42.918	889316	71.165

## 4. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 4 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



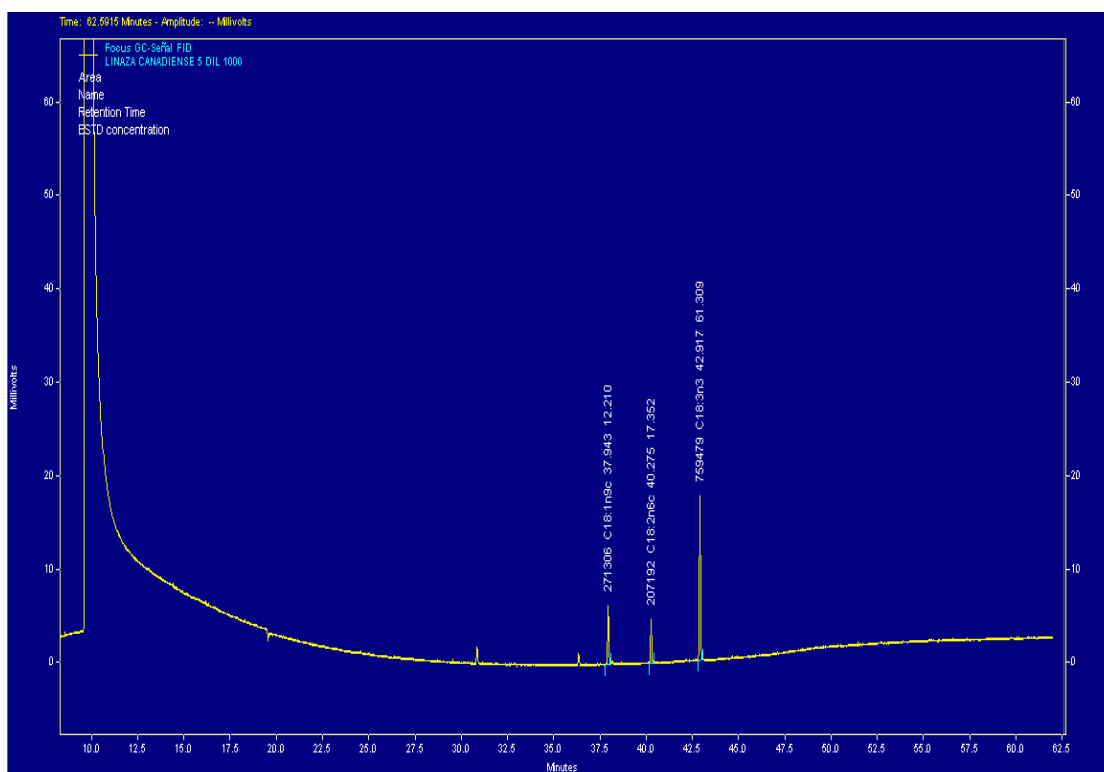
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 4 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 5:02:09 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:29:12 PM



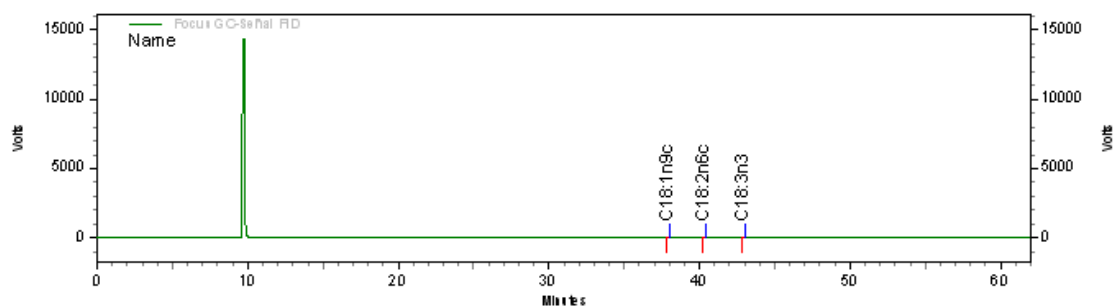
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:28:44  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	309428	13.566
2	C18:2n6c	40.277	237776	19.514
3	C18:3n3	42.920	693358	56.290

## 5. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 5 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



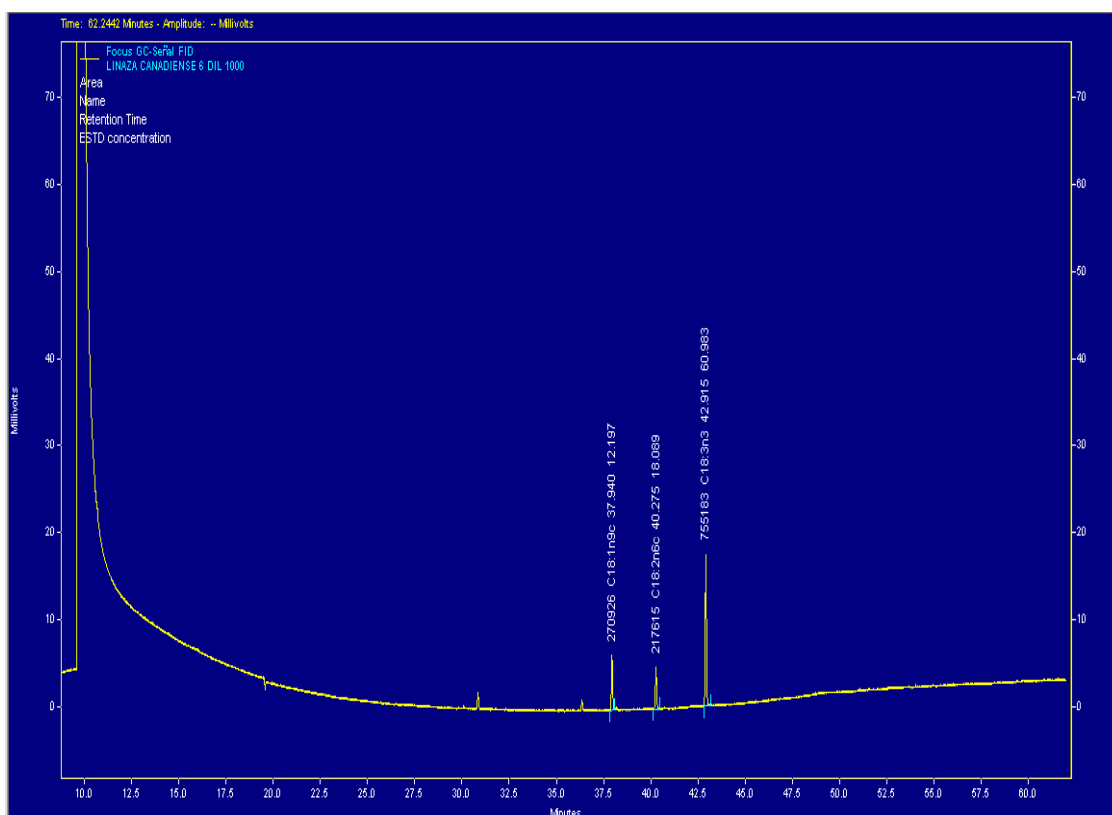
Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 5 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 6:08:45 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:30:14 PM



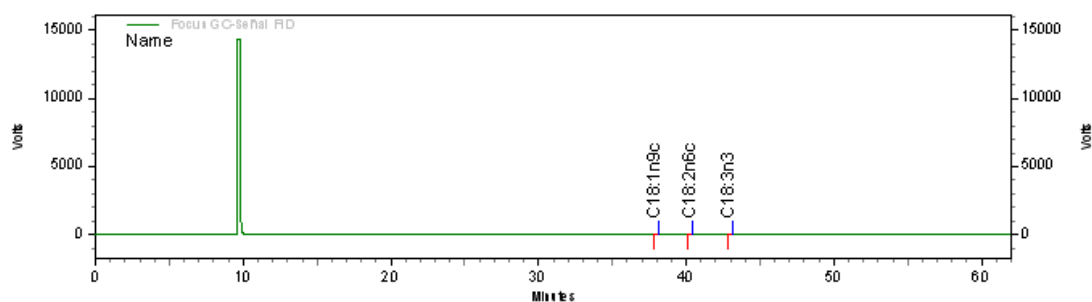
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:29:34  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	271306	12.210
2	C18:2n6c	40.275	207192	17.352
3	C18:3n3	42.917	759479	61.309

## 6. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 6 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



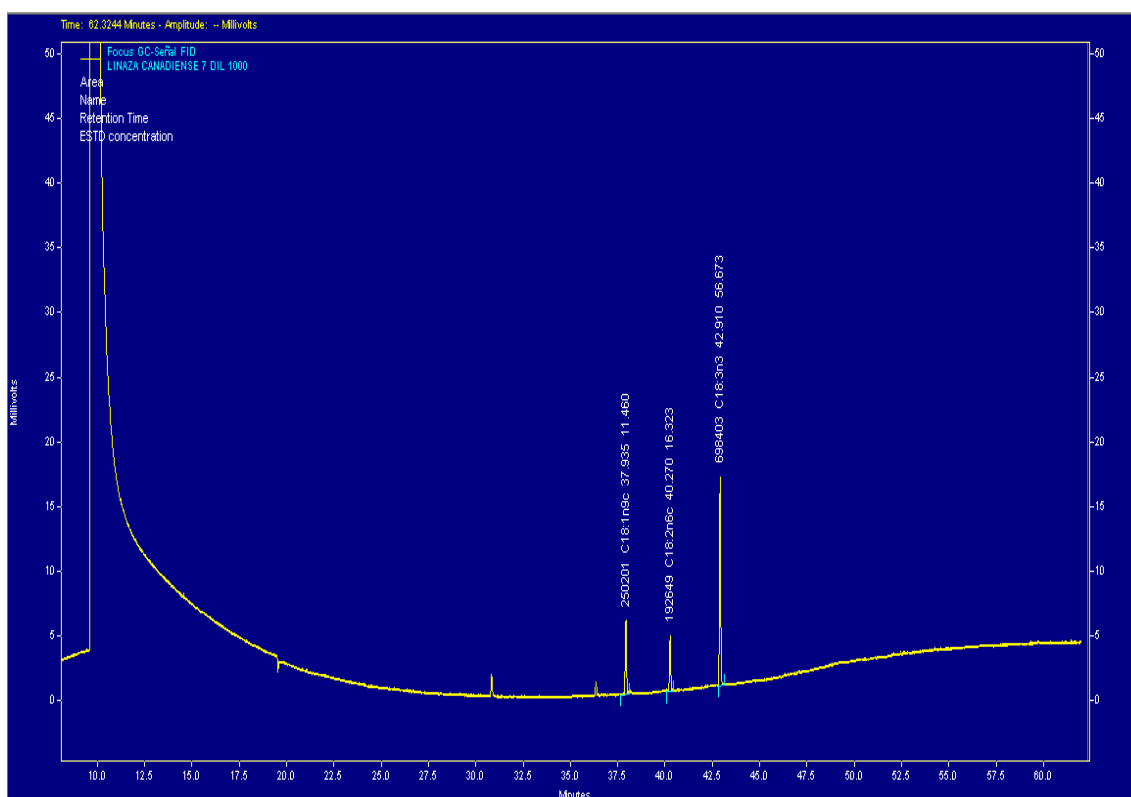
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 6 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 7:15:21 AM  
 Printed: 6/4/2014 5:09:24 PM



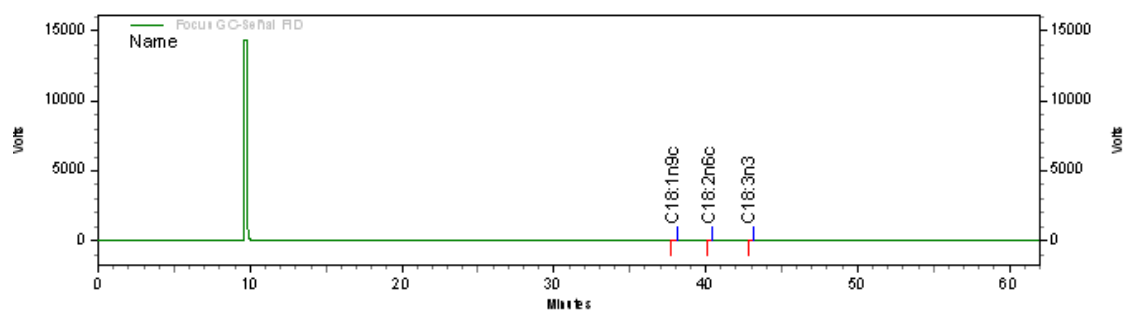
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:08:54  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	270926	12.197
2	C18:2n6c	40.275	217615	18.089
3	C18:3n3	42.915	755183	60.983

## 7. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 7 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



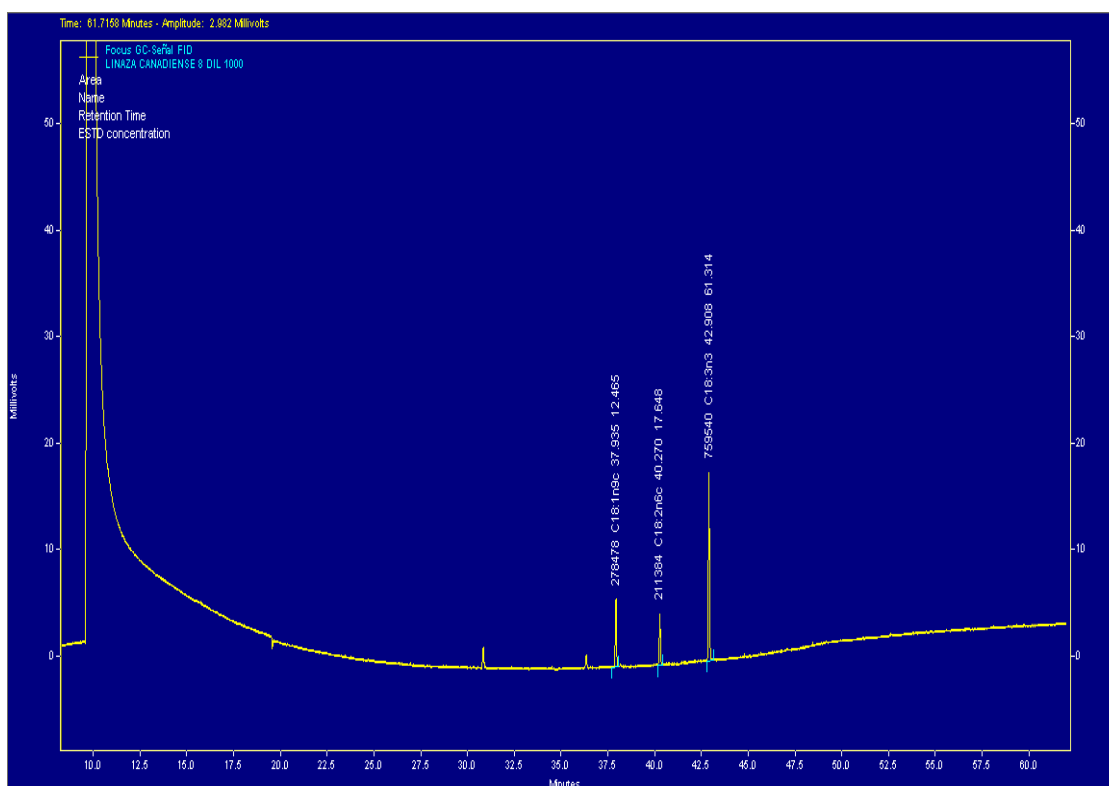
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 7 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 8:22:03 AM  
**Printed:** 6/4/2014 5:04:07 PM



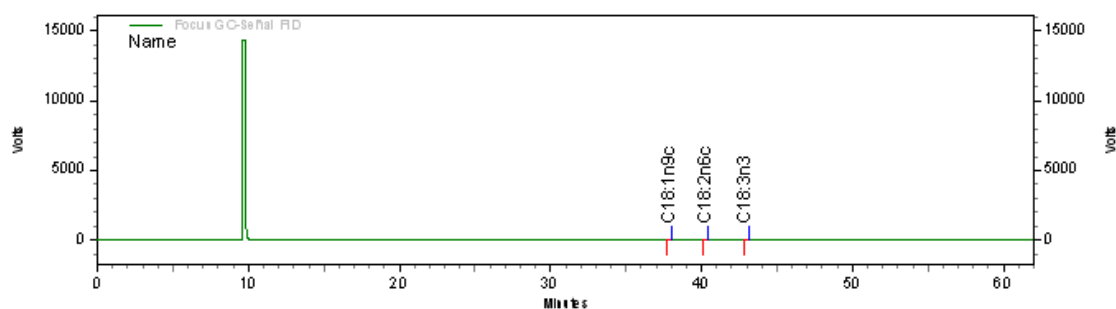
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 5:03:42**  
**PM) (Reprocessed))**

<i>Pk #</i>	<i>Name</i>	<i>Retention Time</i>	<i>Area</i>	<i>Concentration</i>
1	C18:1n9c	37.935	250201	11.460
2	C18:2n6c	40.270	192649	16.323
3	C18:3n3	42.910	698403	56.673

## 8. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 8 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



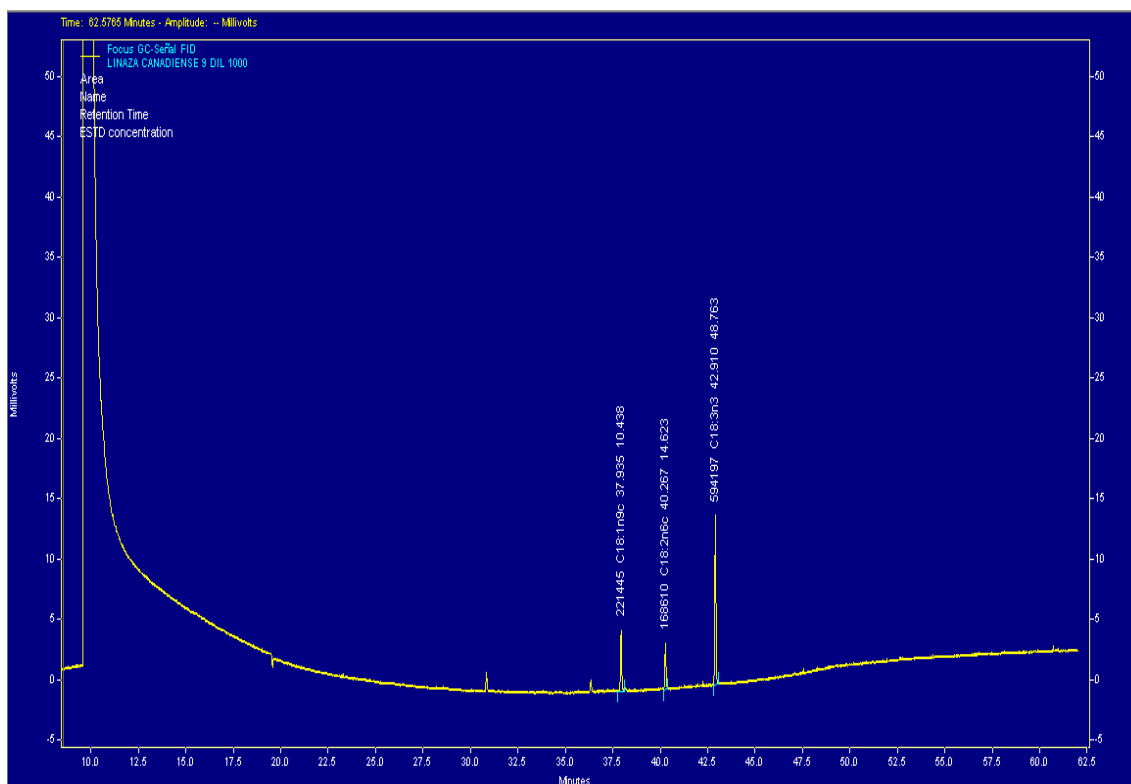
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 8 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 9:28:43 AM  
**Printed:** 6/4/2014 5:05:19 PM



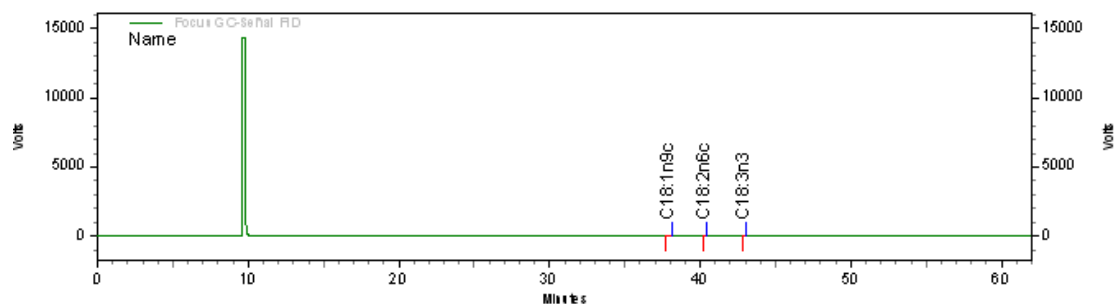
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:04:52  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.935	278478	12.465
2	C18:2n6c	40.270	211384	17.648
3	C18:3n3	42.908	759540	61.314

## 9. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 9 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



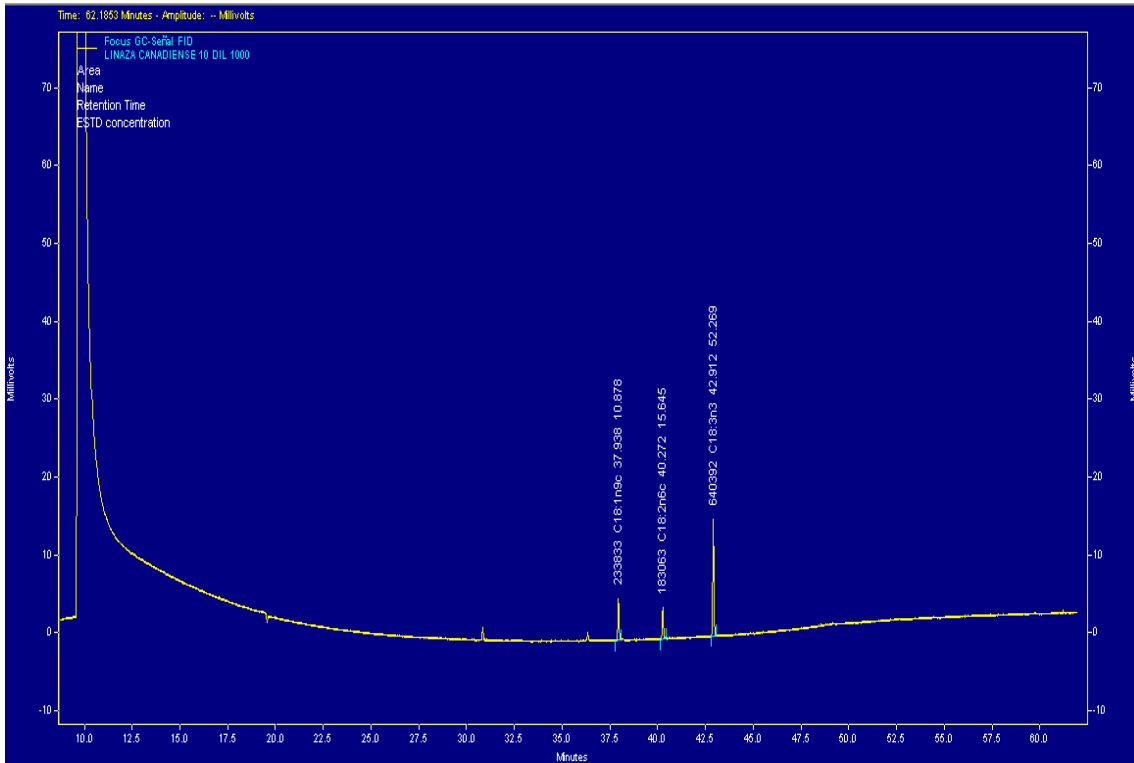
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 9 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 10:35:24 AM  
 Printed: 6/4/2014 5:06:25 PM



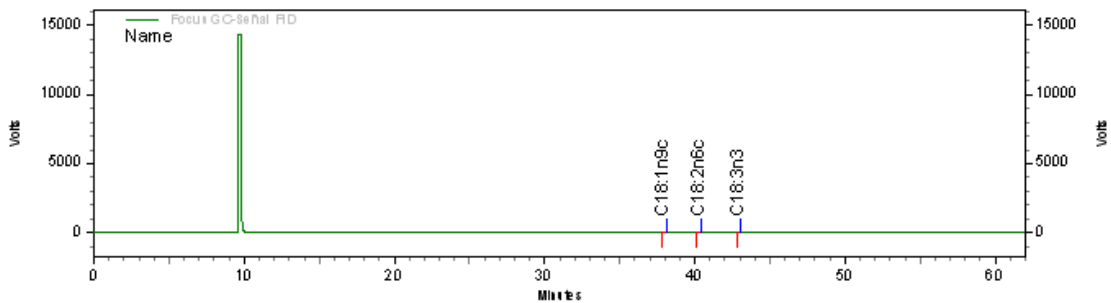
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:06:00  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.935	221445	10.438
2	C18:2n6c	40.267	168610	14.623
3	C18:3n3	42.910	594197	48.763

# 10. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 10 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



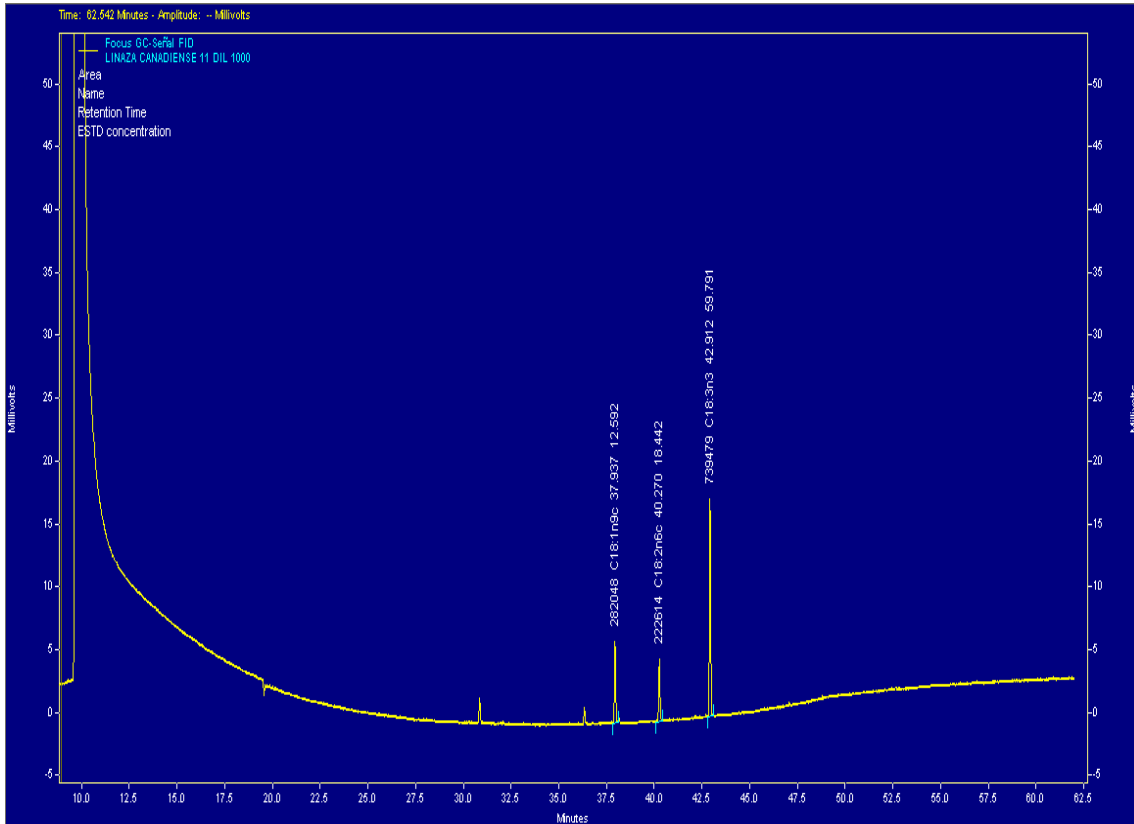
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 10 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 11:42:06 AM  
**Printed:** 6/4/2014 5:10:33 PM



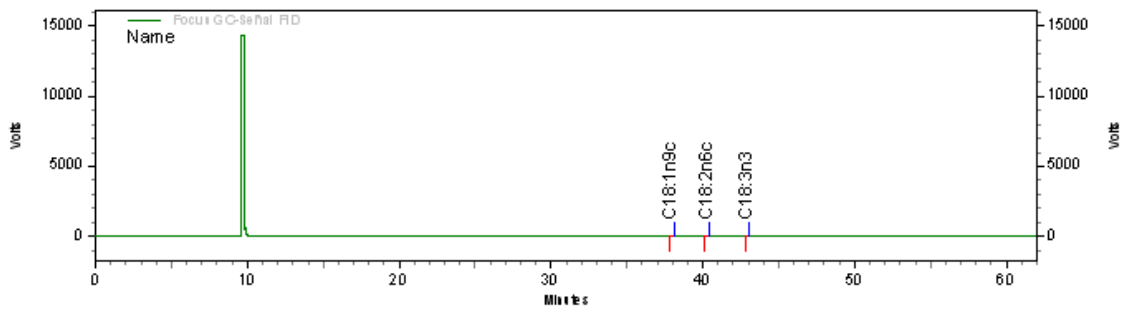
Focus GC-Sigal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:10:05  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.938	233833	10.878
2	C18:2n6c	40.272	183063	15.645
3	C18:3n3	42.912	640392	52.269

# 11. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 11 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



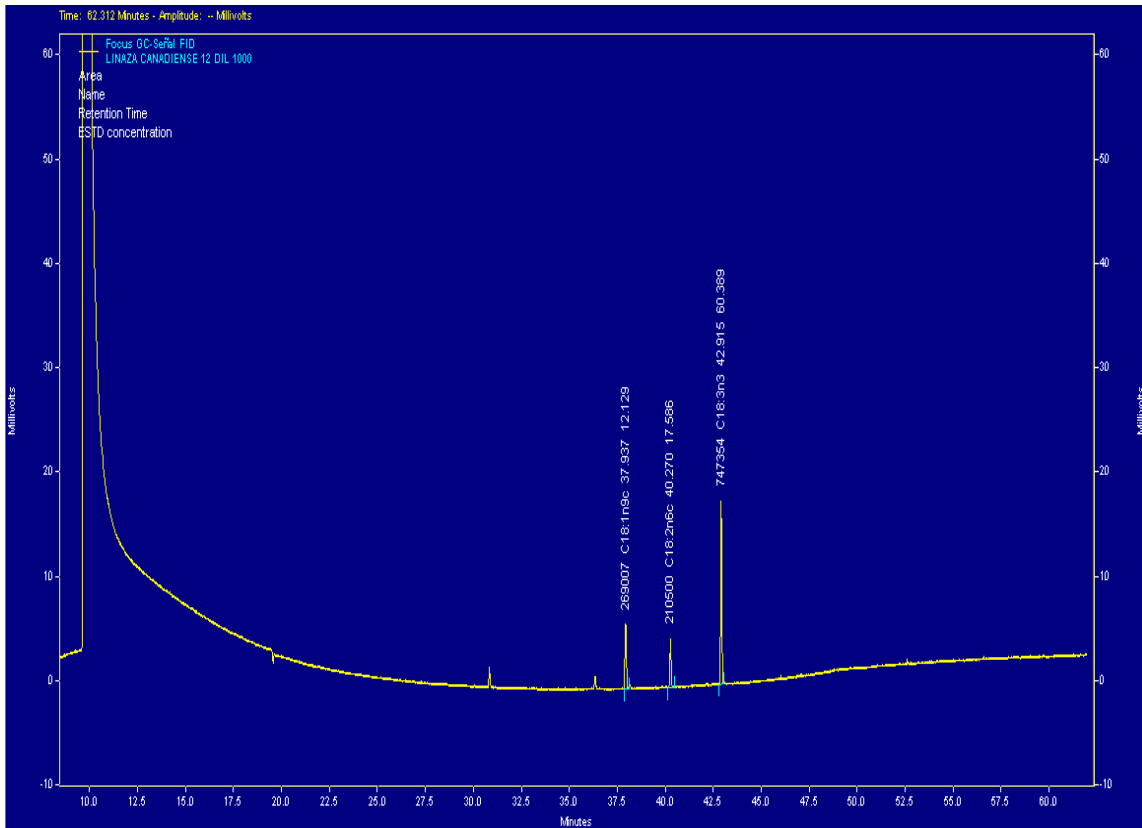
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 11 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 12:48:40 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:11:11 PM



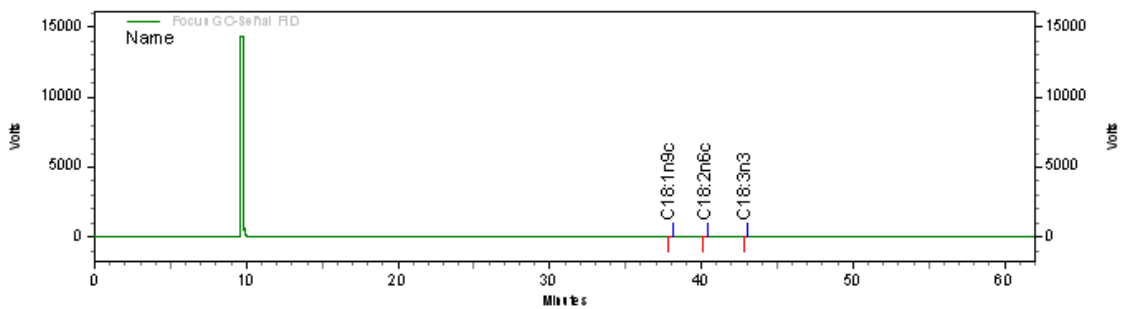
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:10:50  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	282048	12.592
2	C18:2n6c	40.270	222614	18.442
3	C18:3n3	42.912	739479	59.791

## 12. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 12 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 1000



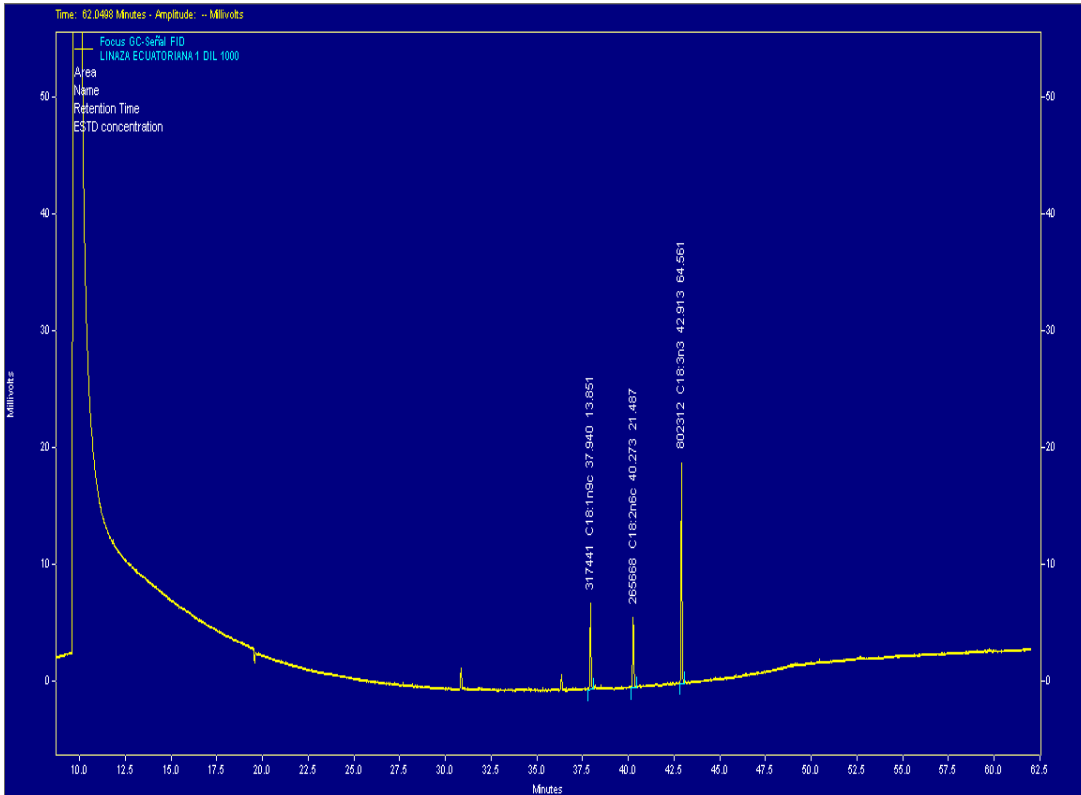
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 12 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 1:55:15 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:11:58 PM



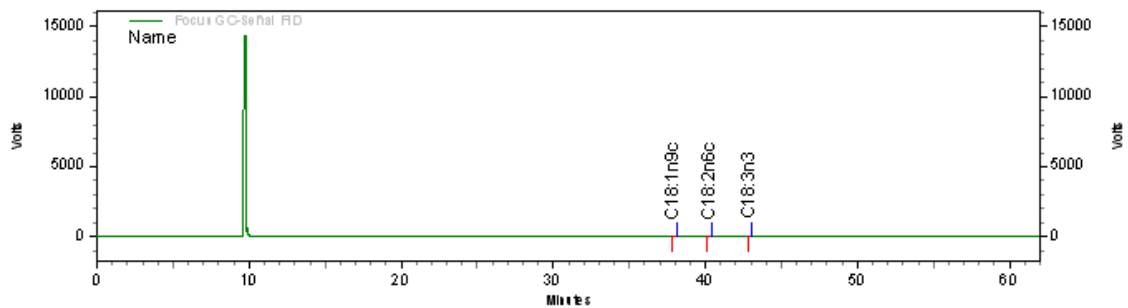
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:11:35  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	269007	12.129
2	C18:2n6c	40.270	210500	17.586
3	C18:3n3	42.915	747354	60.389

# 13. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



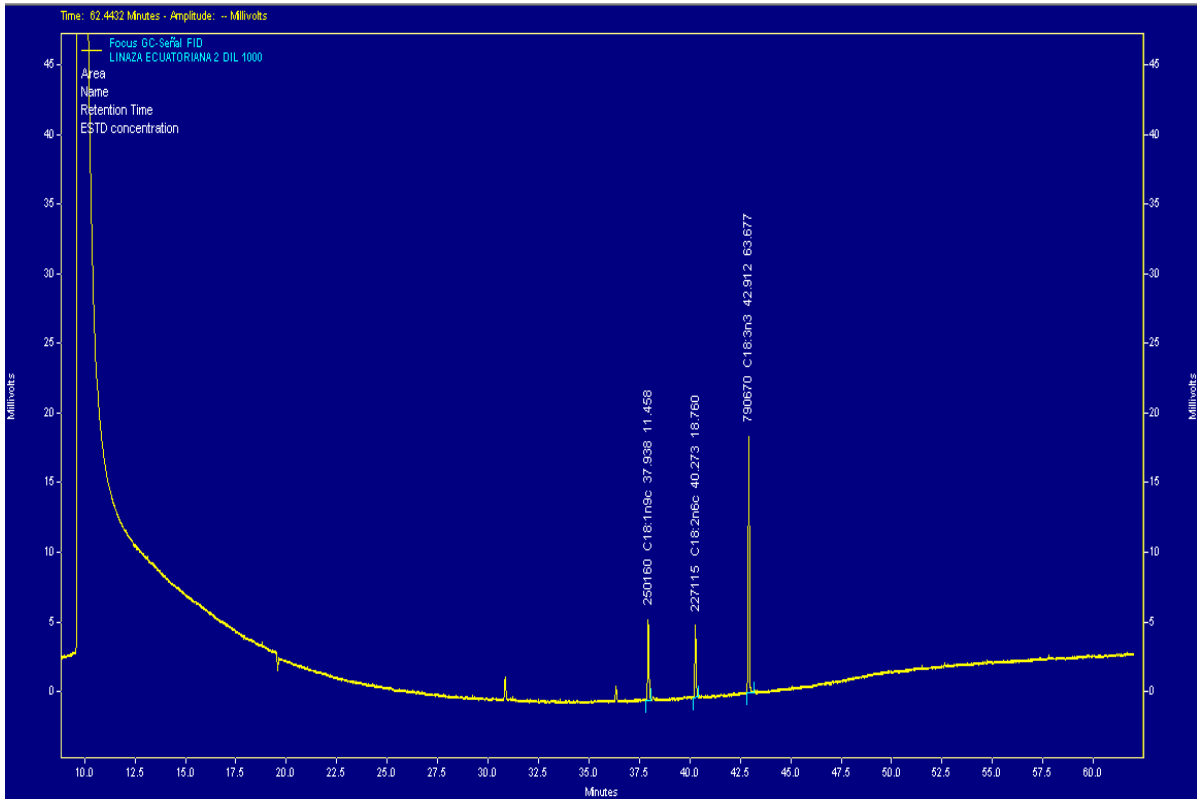
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 1 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 3:01:55 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:12:42 PM



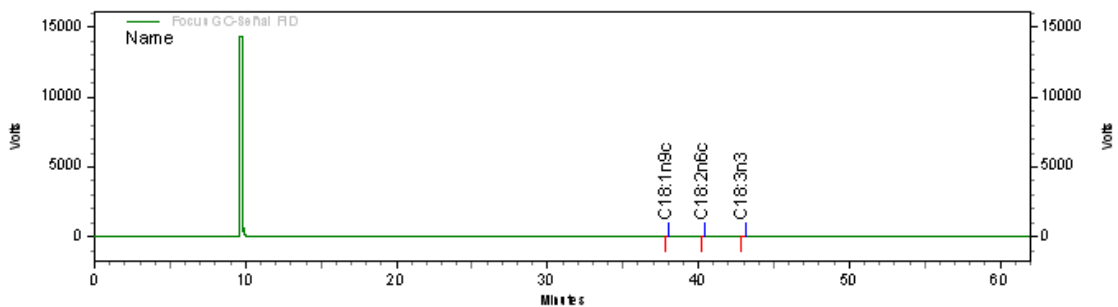
Focus GC-Senial  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:12:19  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	317441	13.851
2	C18:2n6c	40.273	265668	21.487
3	C18:3n3	42.913	802312	64.561

# 14. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 2 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



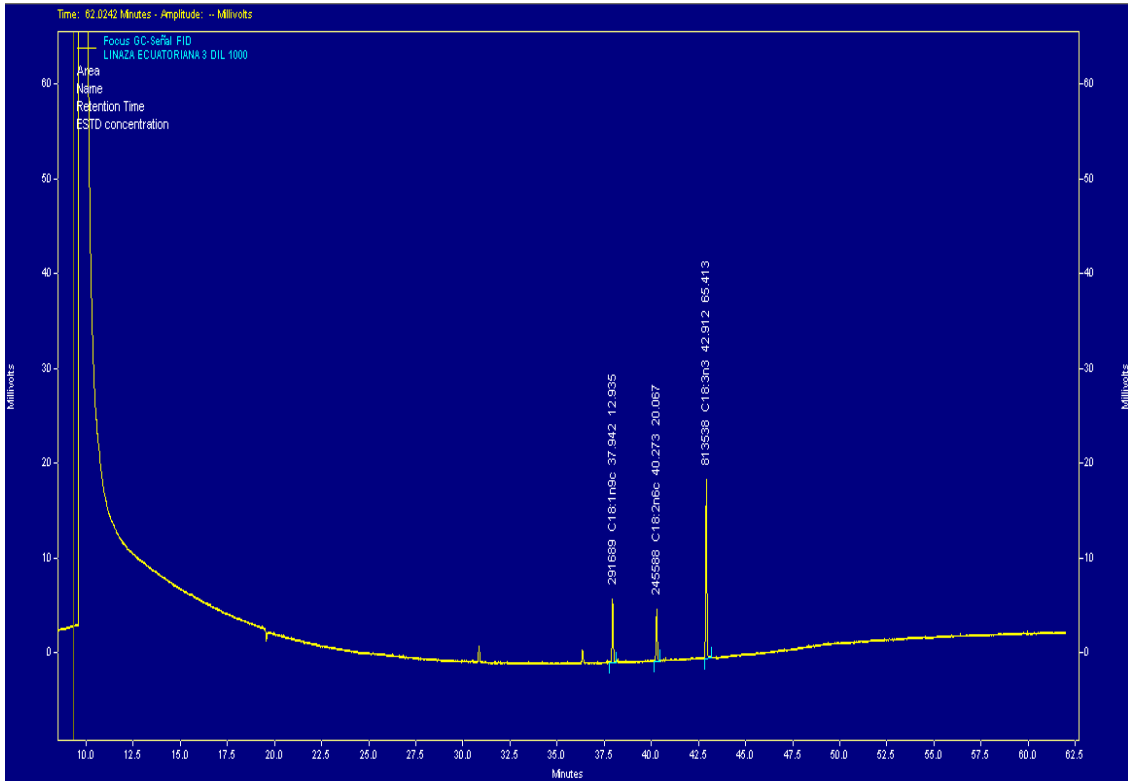
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 2 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 4:08:30 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:13:23 PM



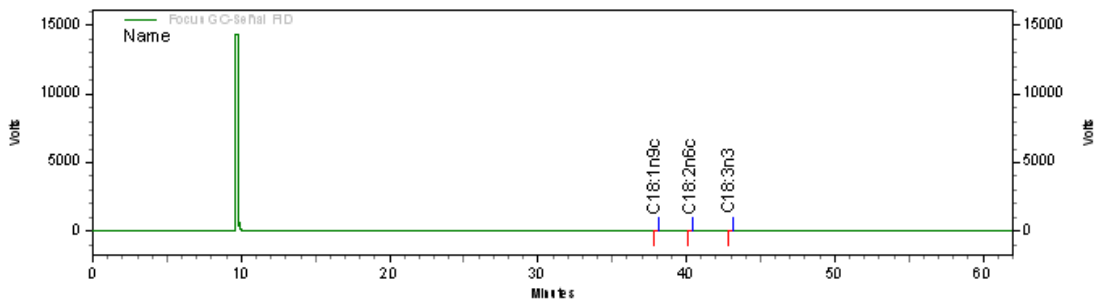
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:20:00**  
**PM) (Reprocessed))**

<i>Pk #</i>	<i>Name</i>	<i>Retention Time</i>	<i>Area</i>	<i>Concentration</i>
1	C18:1n9c	37.938	250160	11.458
2	C18:2n6c	40.273	227115	18.760
3	C18:3n3	42.912	790670	63.677

# 15. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 3 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



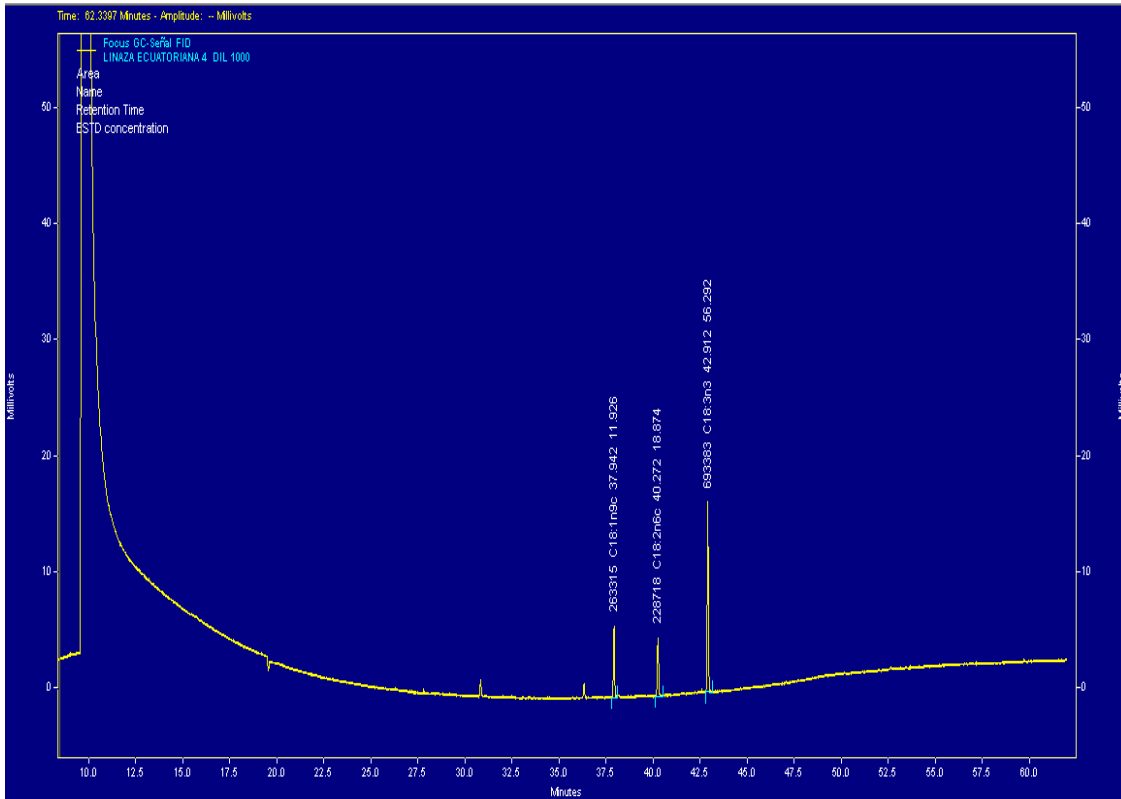
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 3 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 5:15:10 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:14:06 PM



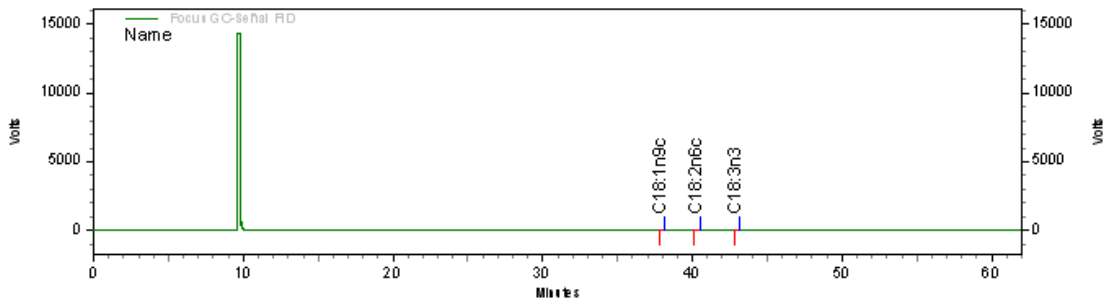
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 5:13:45**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	291689	12.935
2	C18:2n6c	40.273	245588	20.067
3	C18:3n3	42.912	813538	65.413

# 16. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 4 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



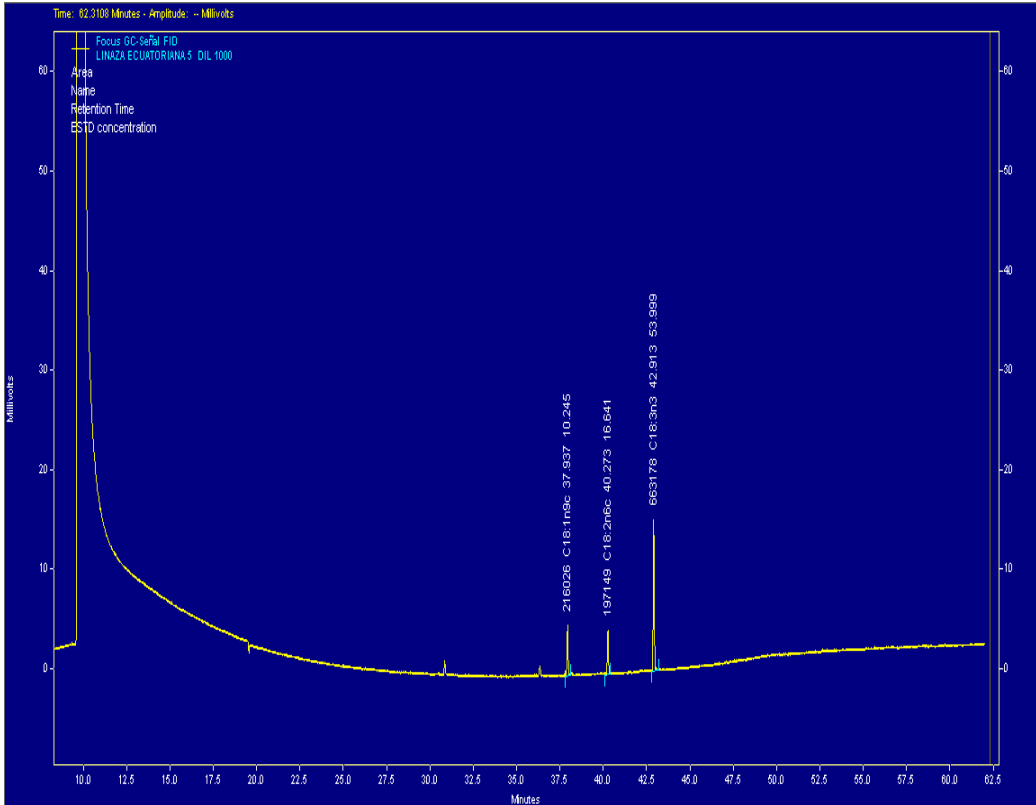
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 4 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 6:21:45 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:14:52 PM



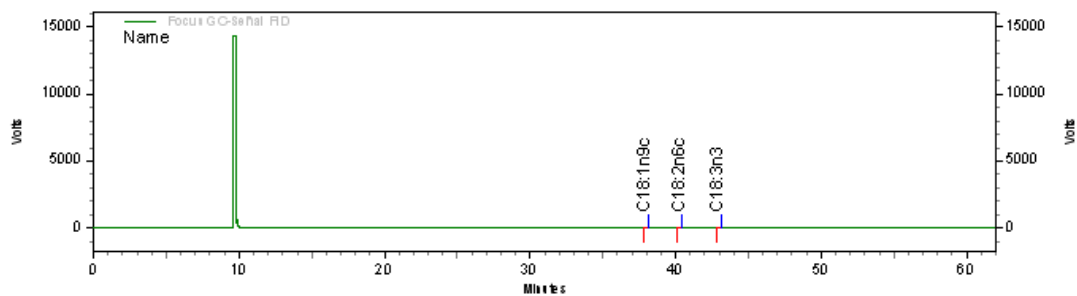
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 5:14:28**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	263315	11.926
2	C18:2n6c	40.272	228718	18.874
3	C18:3n3	42.912	693383	56.292

# 17. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 5 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



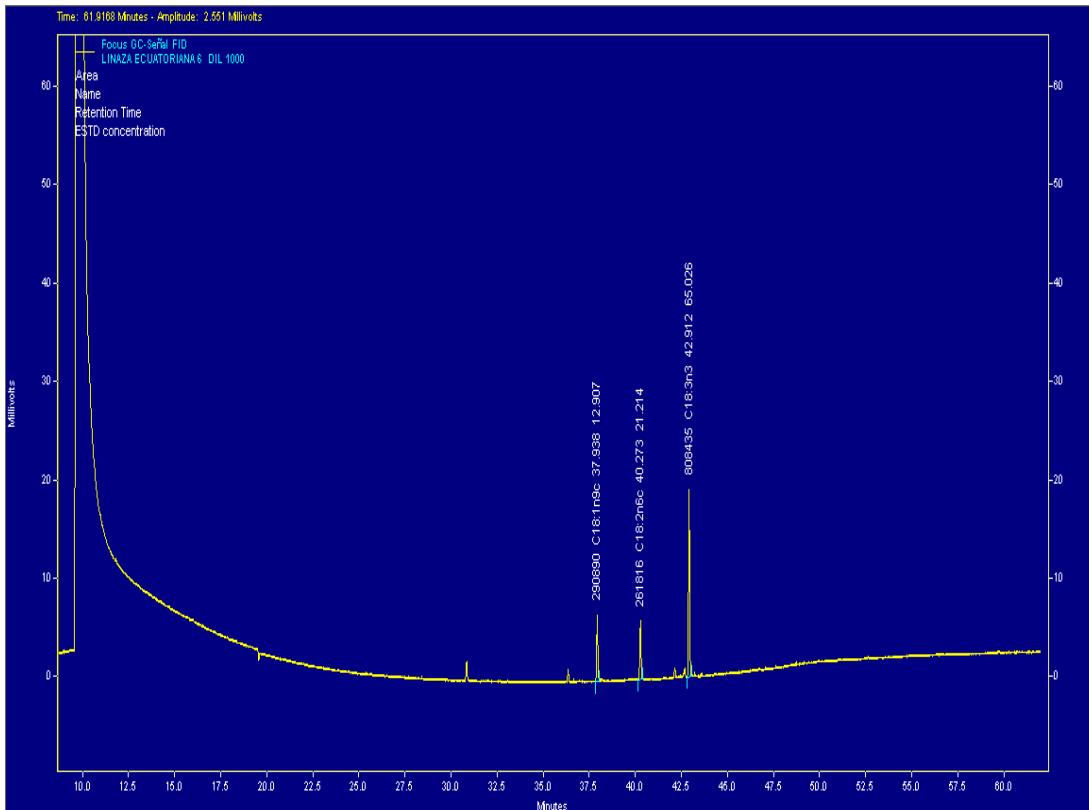
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL\A\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 5 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 7:28:21 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:15:39 PM



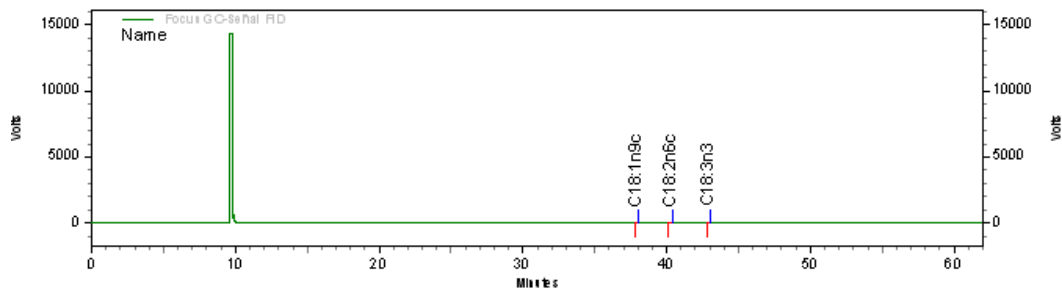
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 5:15:09**  
**PM) (Reprocessed))**

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	216026	10.245
2	C18:2n6c	40.273	197149	16.641
3	C18:3n3	42.913	663178	53.999

# 18. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 6 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



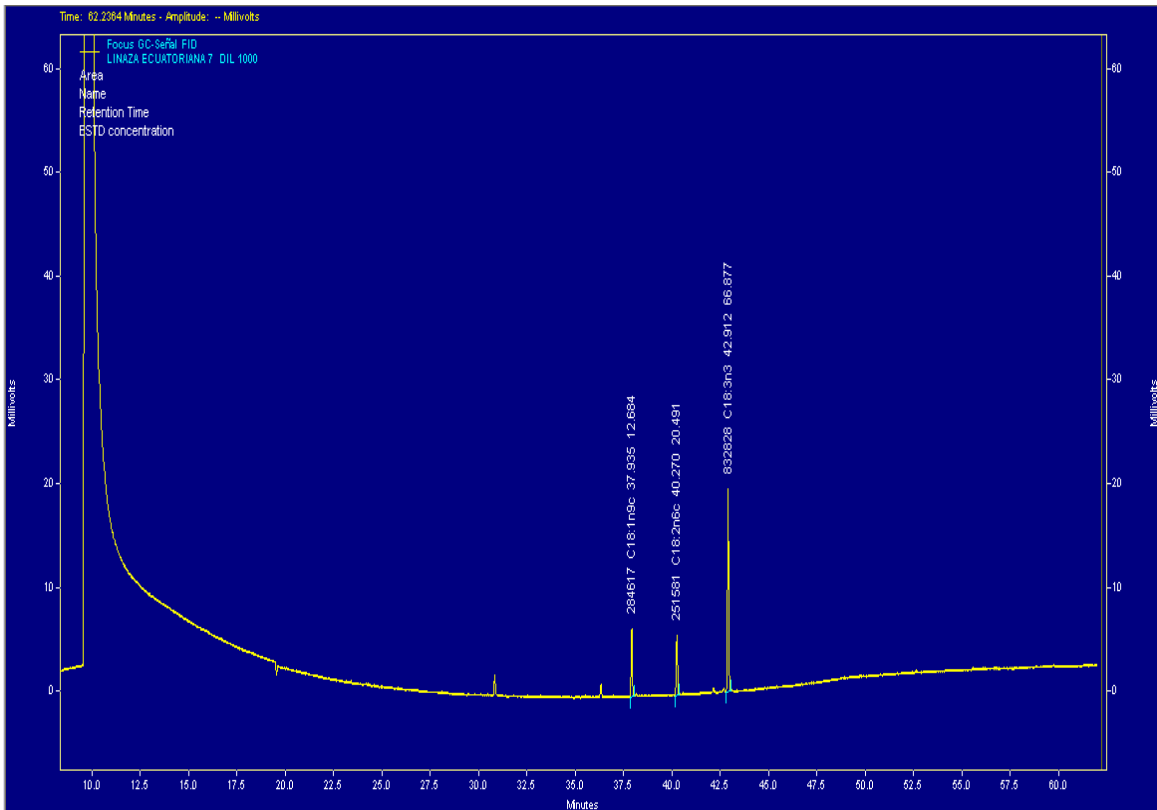
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 6 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 8:34:58 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:16:19 PM



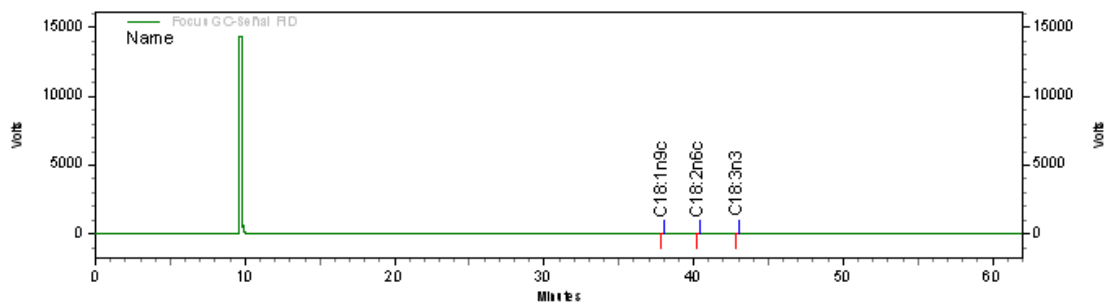
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:02:43  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.938	290890	12.907
2	C18:2n6c	40.273	261816	21.214
3	C18:3n3	42.912	808435	65.026

# 19. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 7 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



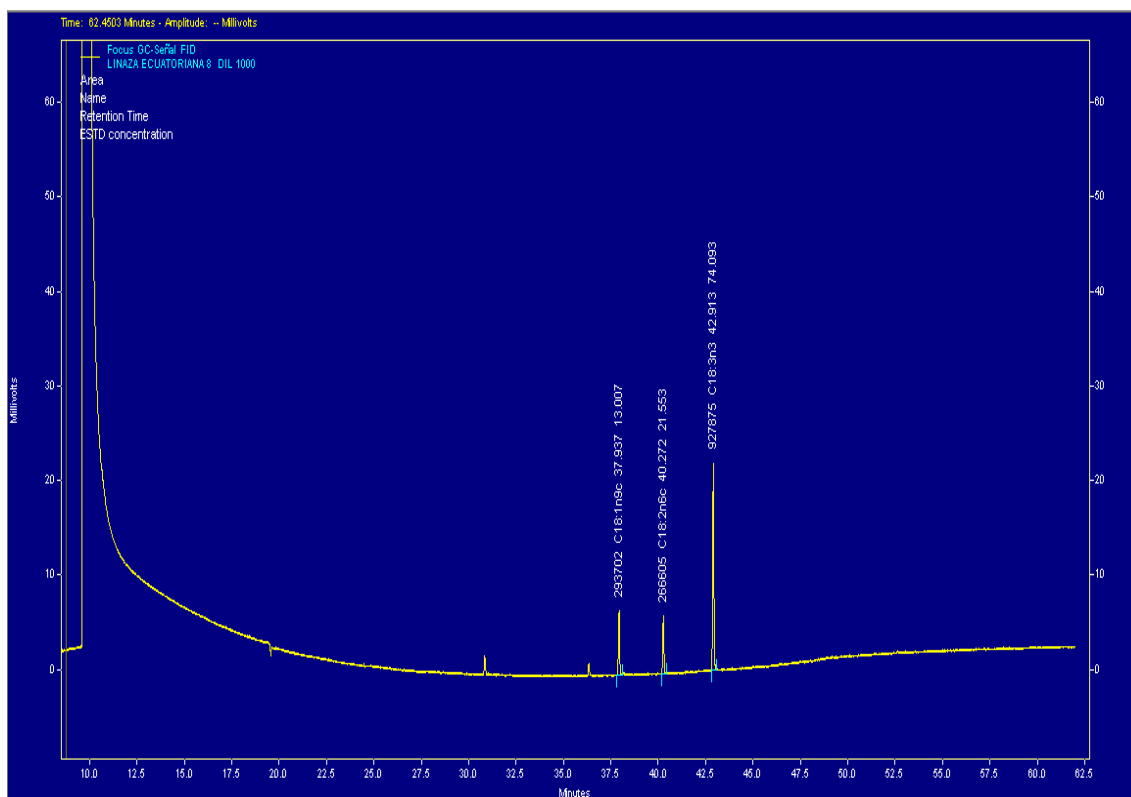
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 7 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/26/2014 9:41:34 PM  
**Printed:** 6/4/2014 5:17:02 PM



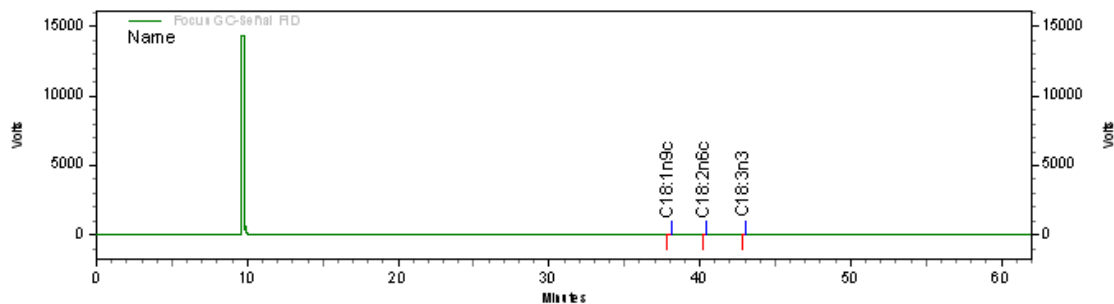
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:16:41  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.935	284617	12.684
2	C18:2n6c	40.270	251581	20.491
3	C18:3n3	42.912	832828	66.877

## 20. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 8 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



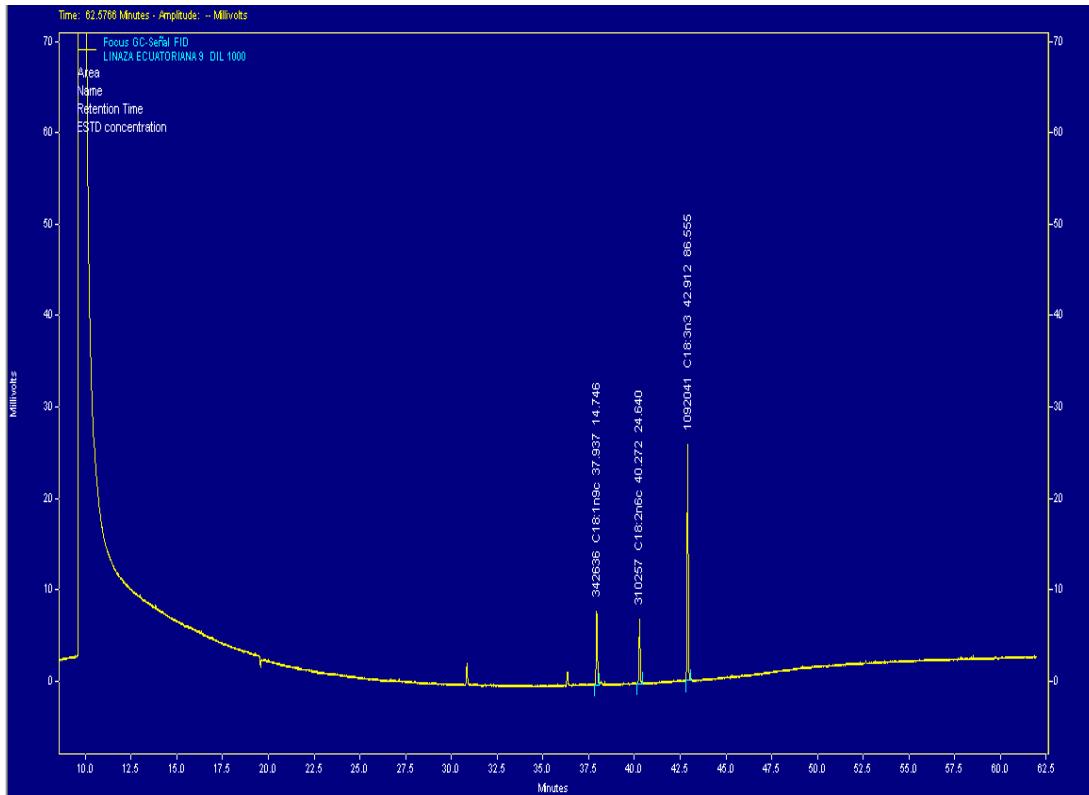
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 8 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 10:48:13 PM  
 Printed: 6/4/2014 5:17:44 PM



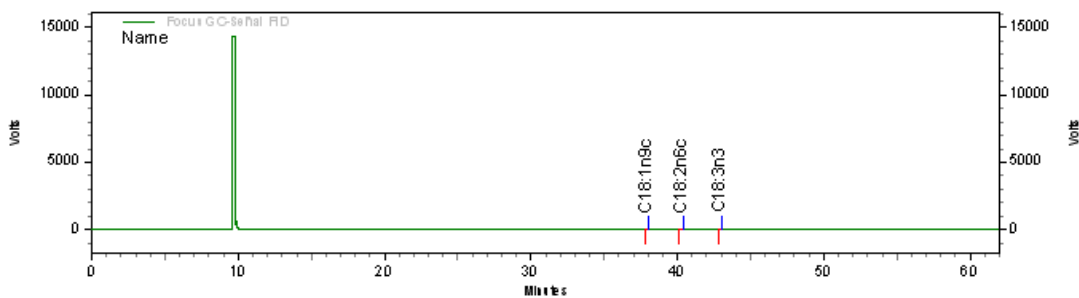
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:17:23  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	293702	13.007
2	C18:2n6c	40.272	266605	21.553
3	C18:3n3	42.913	927875	74.093

## 21. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 9 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



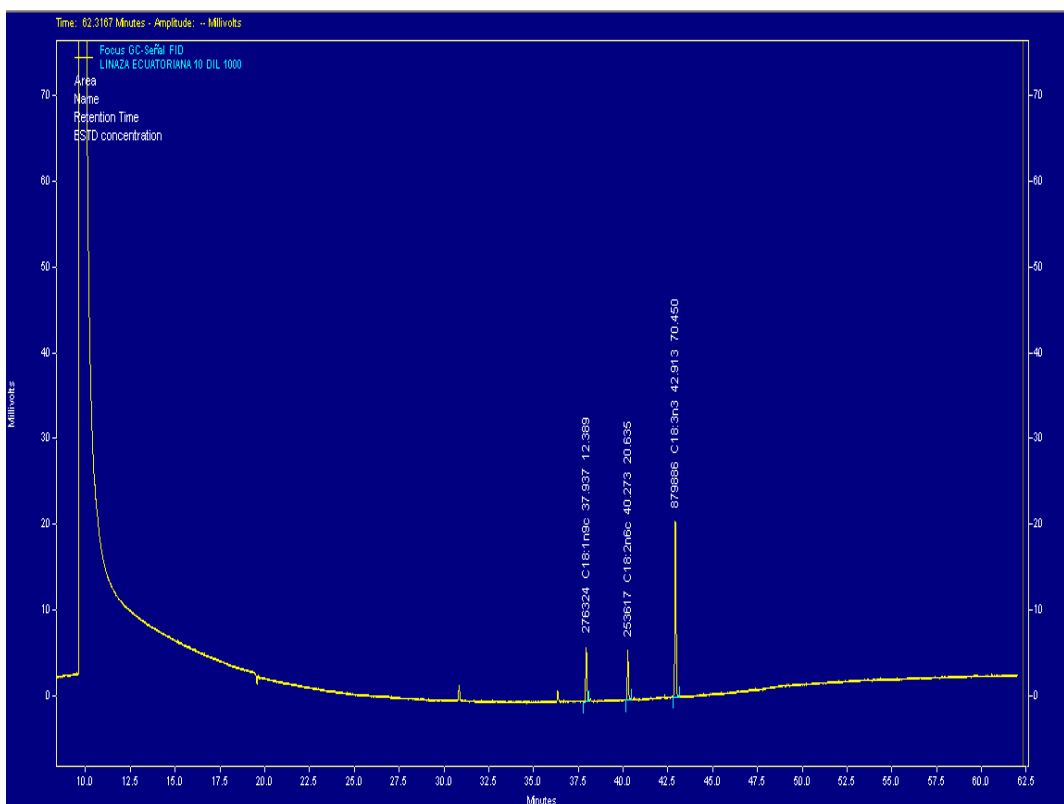
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 9 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/26/2014 11:54:47 PM  
 Printed: 6/4/2014 5:18:33 PM



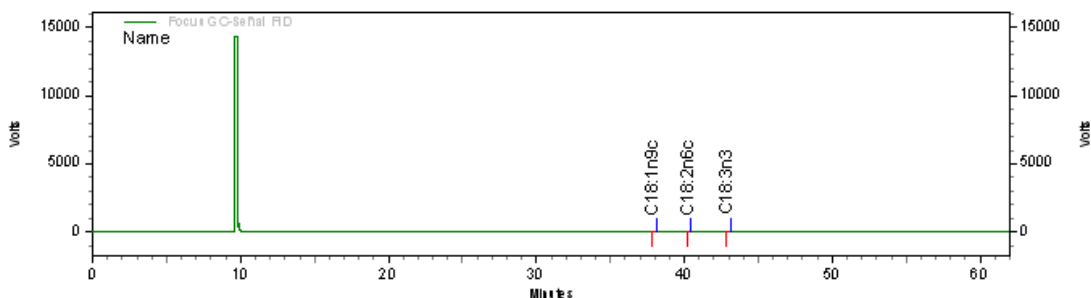
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:18:09  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	342636	14.746
2	C18:2n6c	40.272	310257	24.640
3	C18:3n3	42.912	1092041	86.555

## 22. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 10 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



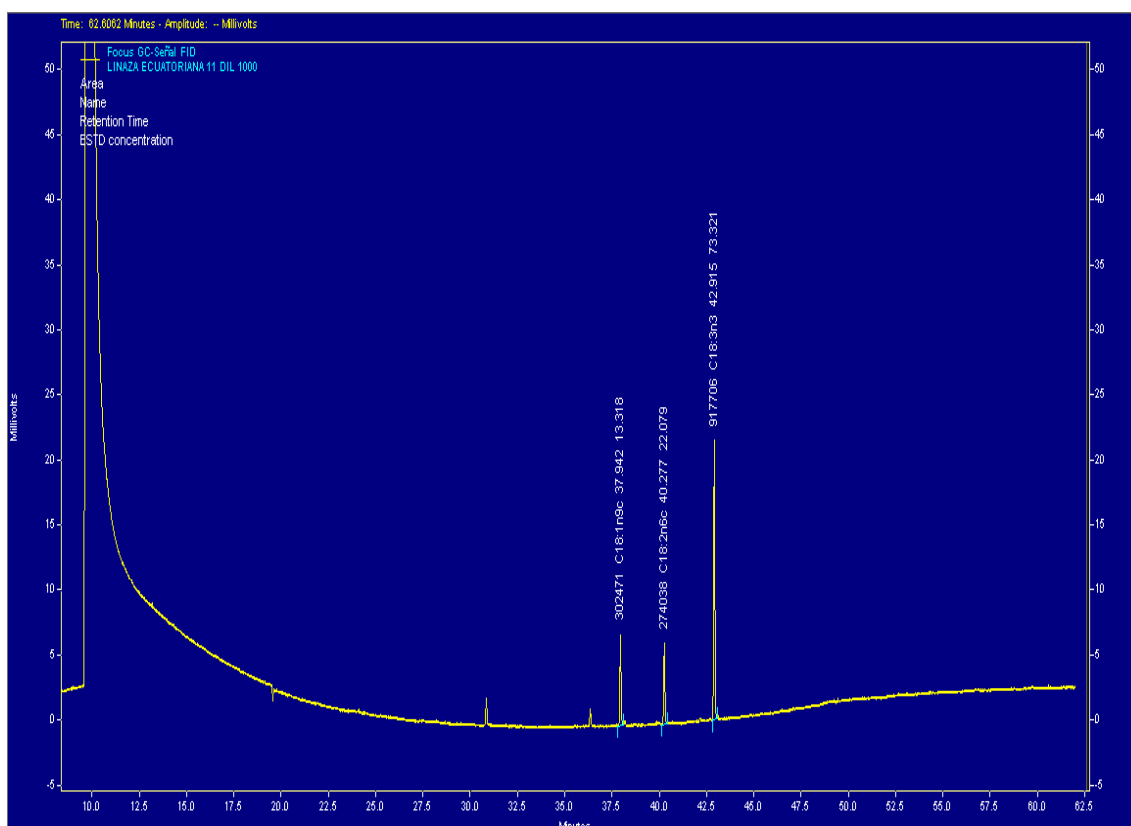
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 10 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 1:01:23 AM  
 Printed: 6/4/2014 5:19:17 PM



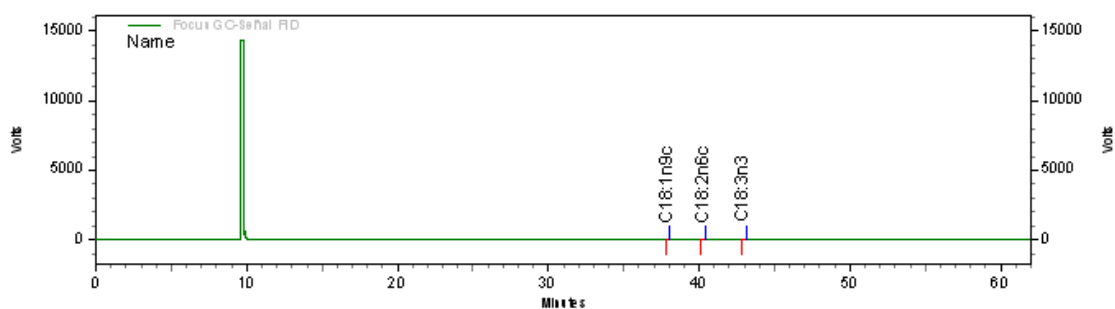
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:18:53  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	276324	12.389
2	C18:2n6c	40.273	253617	20.635
3	C18:3n3	42.913	879886	70.450

## 23. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 11 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



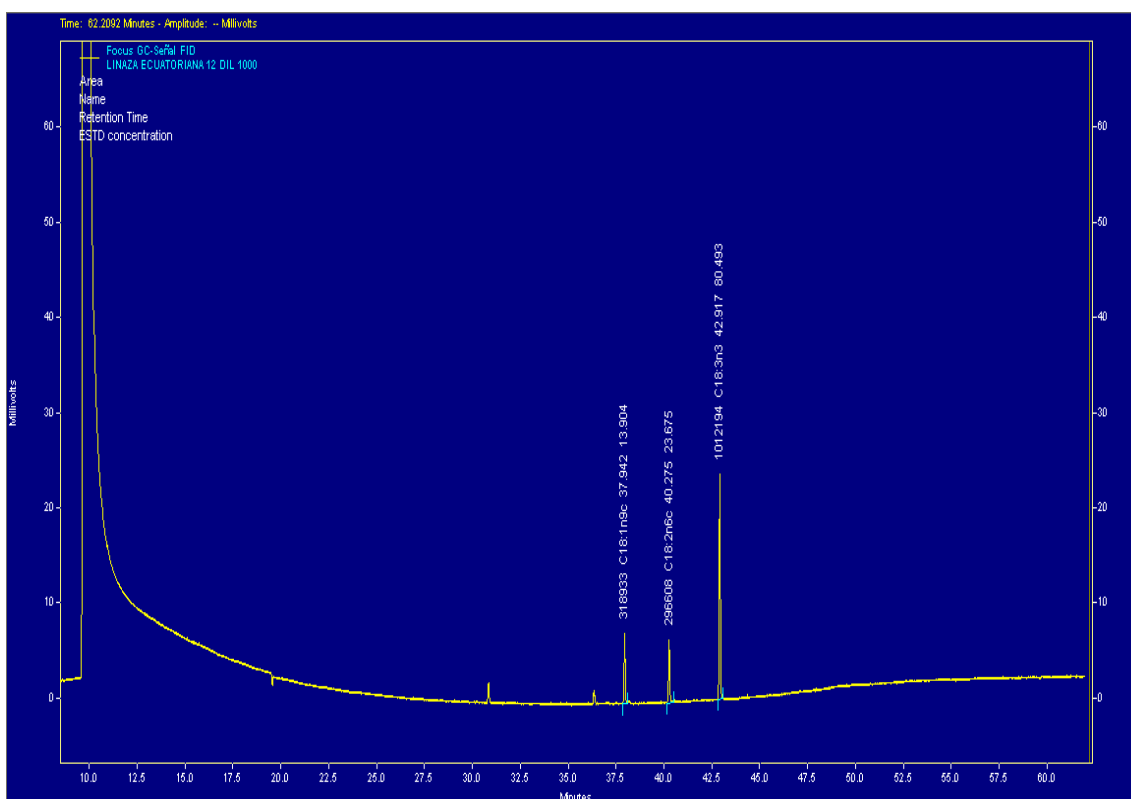
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 11 DIL 1000  
**User:** System  
**Acquired:** 5/27/2014 2:08:01 AM  
**Printed:** 6/4/2014 5:20:05 PM



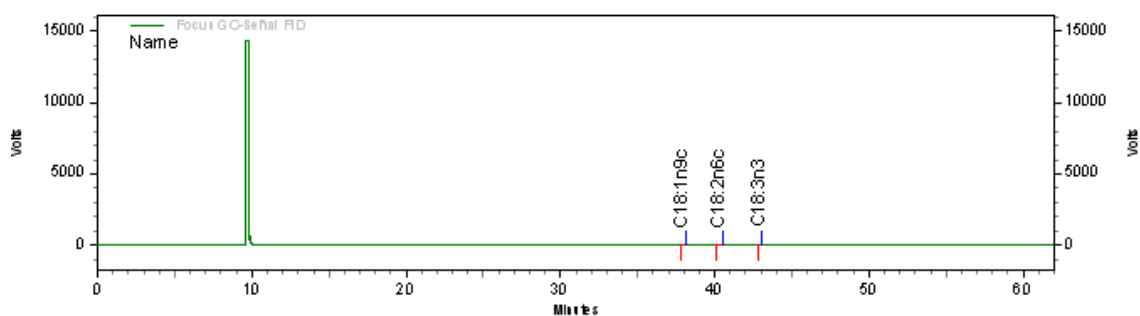
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 5:19:41**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	302471	13.318
2	C18:2n6c	40.277	274038	22.079
3	C18:3n3	42.915	917706	73.321

## 24. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 12 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 1000



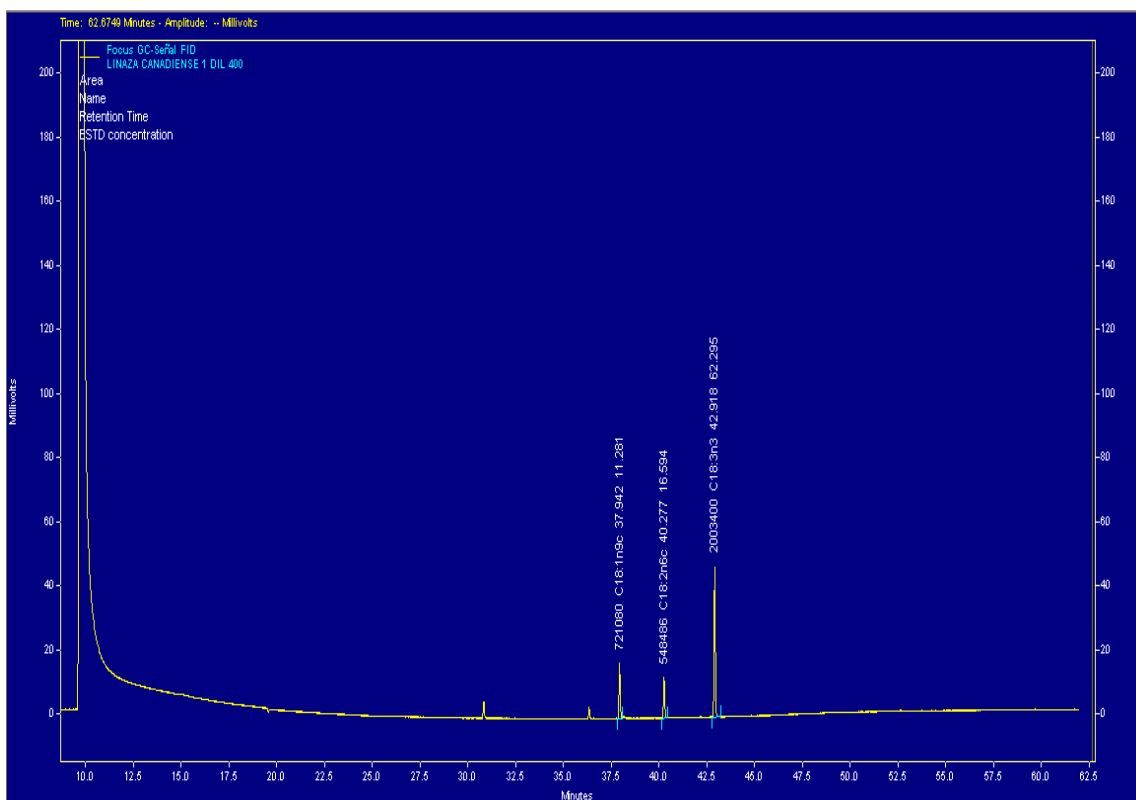
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 12 DIL 1000  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 3:14:37 AM  
 Printed: 6/4/2014 5:20:48 PM



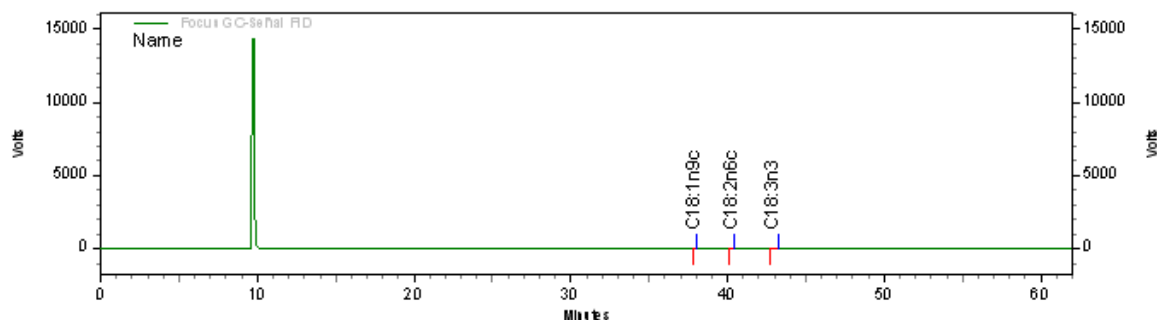
Focus GC-Series  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 5:20:29  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	318933	13.904
2	C18:2n6c	40.275	296608	23.675
3	C18:3n3	42.917	1012194	80.493

## 25. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



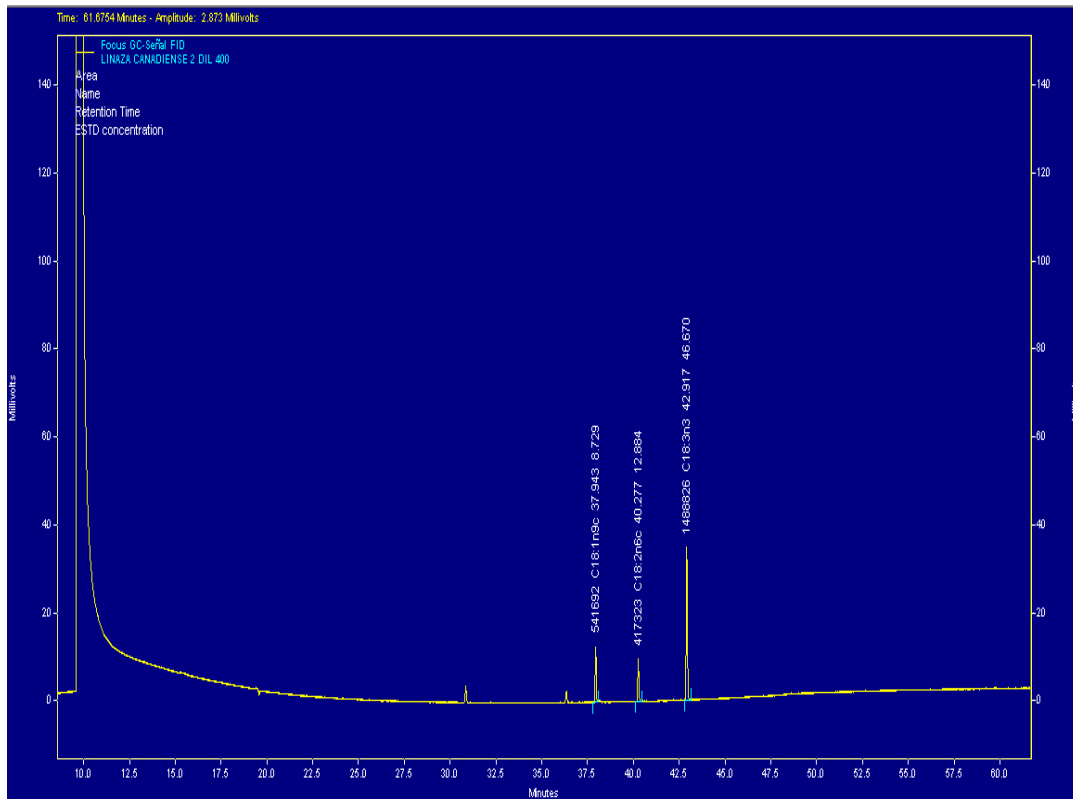
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 1 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 4:39:42 PM  
 Printed: 6/4/2014 3:51:03 PM



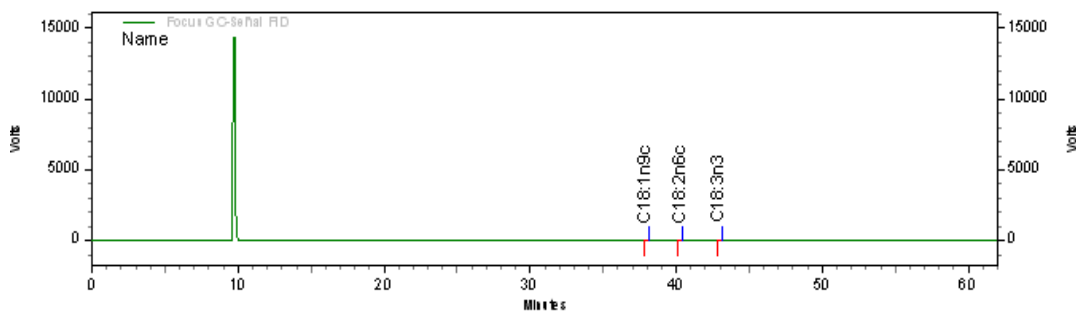
Focus GC-Serial  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:41:46  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	721080	11.281
2	C18:2n6c	40.277	548486	16.594
3	C18:3n3	42.918	2003400	62.295

## 26. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 2 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



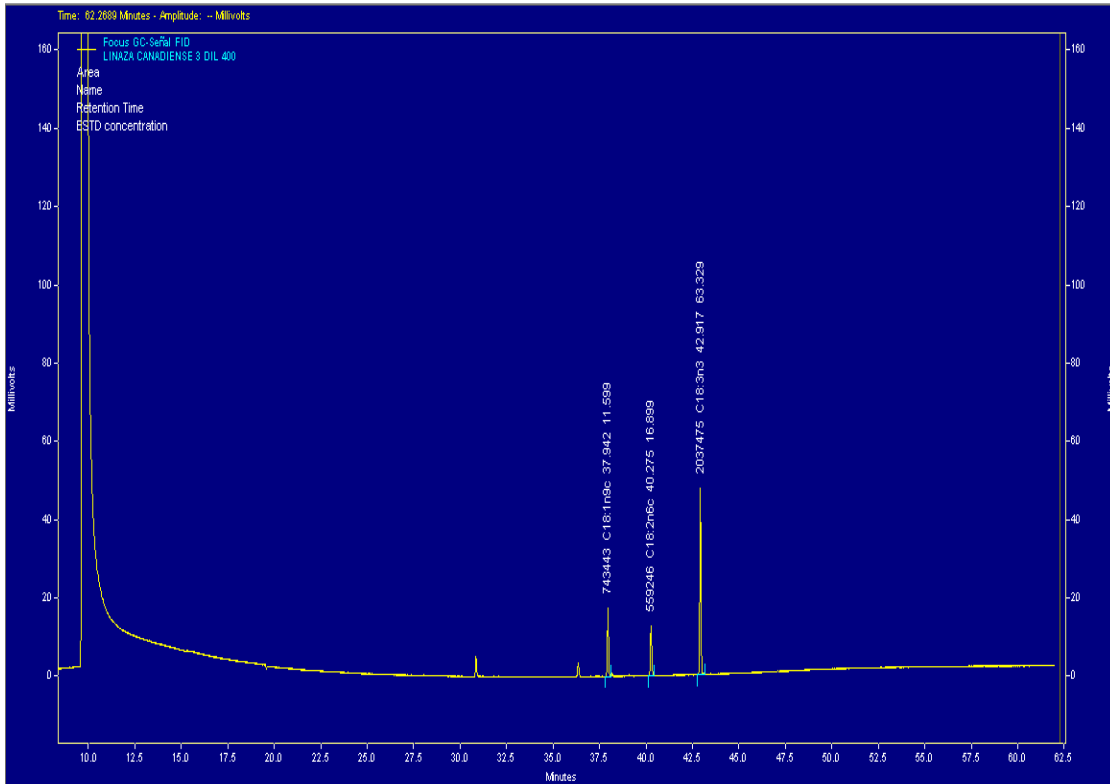
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL\A\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 2 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 5:46:22 PM  
 Printed: 6/4/2014 3:48:03 PM



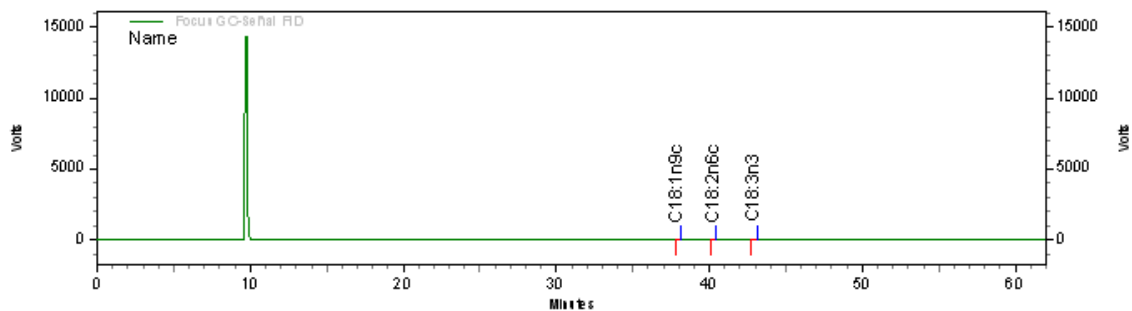
Focus GC-Senhal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:47:05  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	541692	8.729
2	C18:2n6c	40.277	417323	12.884
3	C18:3n3	42.917	1488826	46.670

## 27. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 3 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



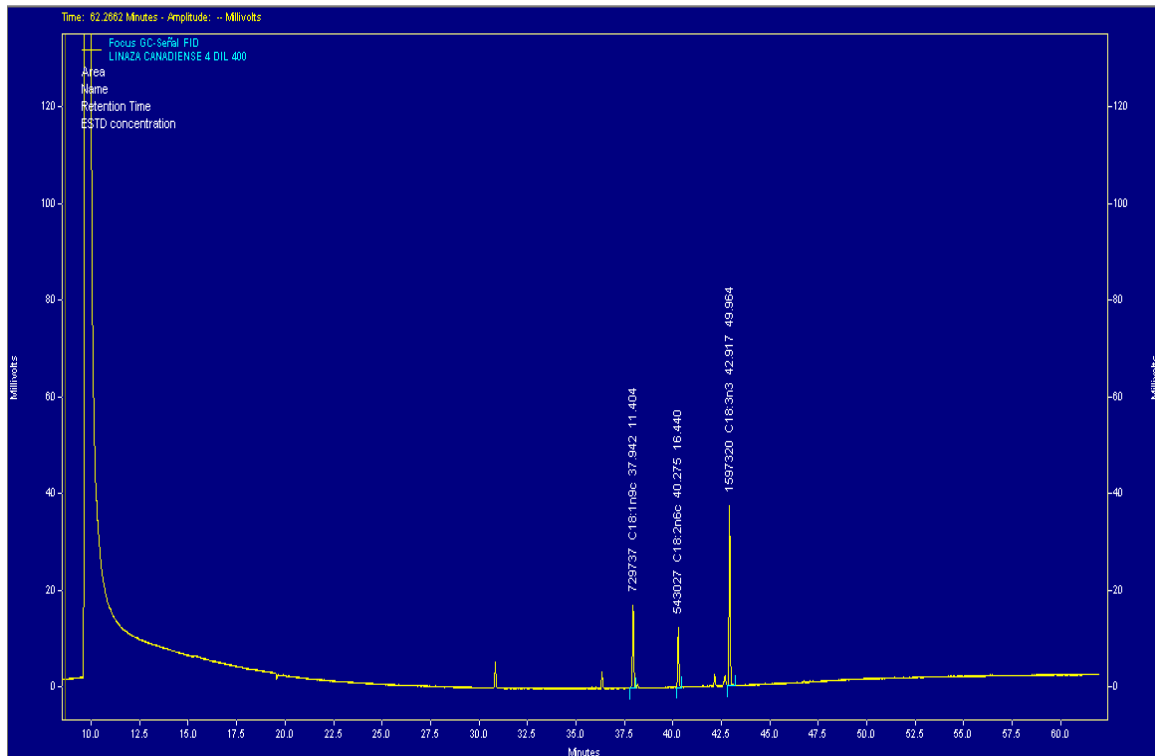
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 3 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/27/2014 6:52:58 PM  
**Printed:** 6/4/2014 3:50:38 PM



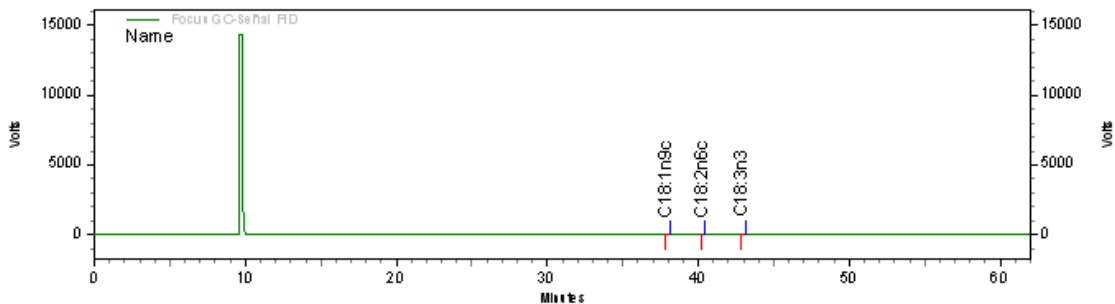
Focus GC-Senial  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:49:55  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	743443	11.599
2	C18:2n6c	40.275	559246	16.899
3	C18:3n3	42.917	2037475	63.329

## 28. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 4 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



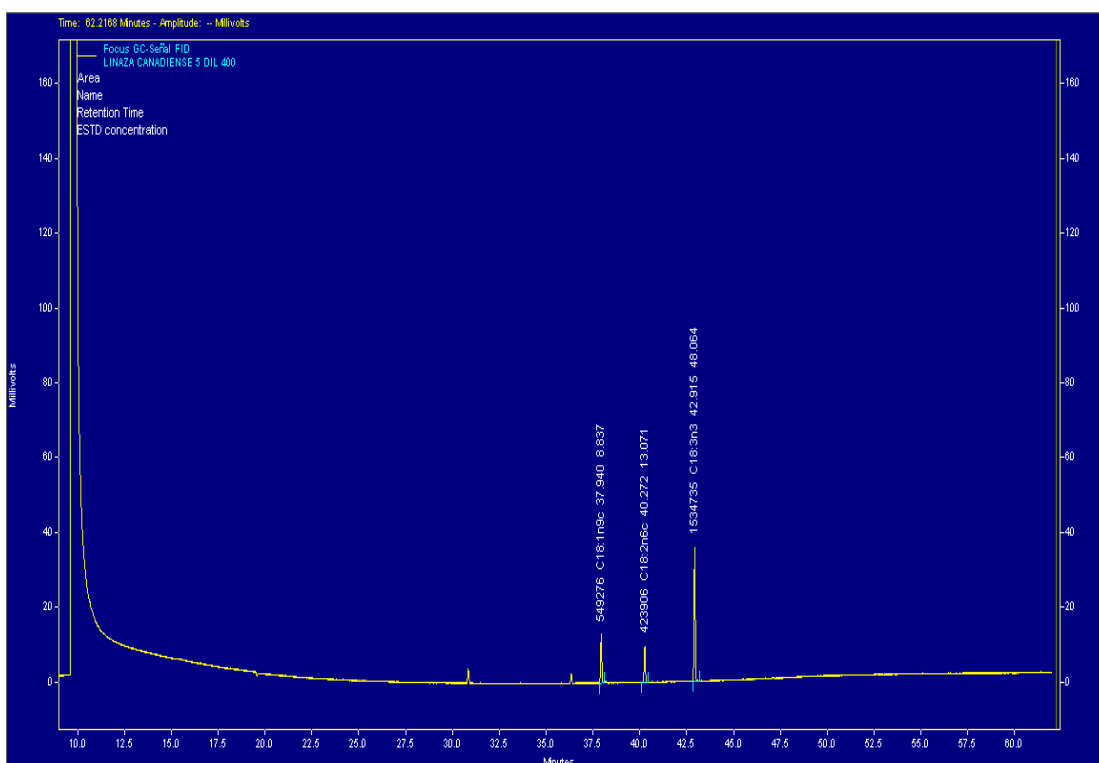
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 4 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/27/2014 7:59:38 PM  
**Printed:** 6/4/2014 3:54:34 PM



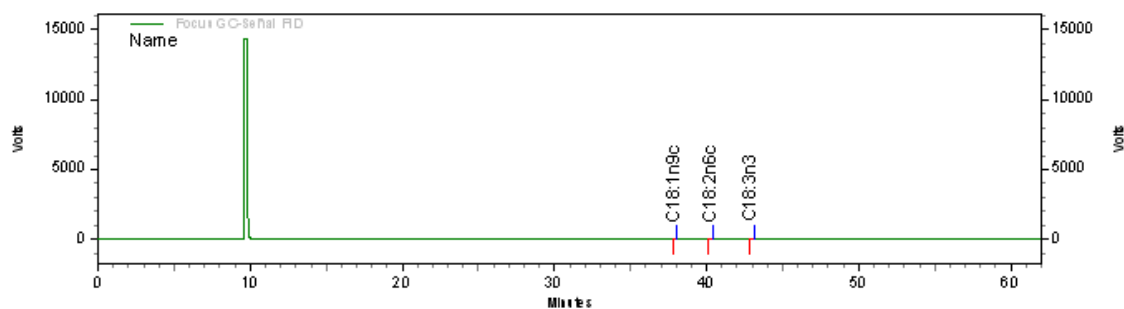
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:53:42  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	729737	11.404
2	C18:2n6c	40.275	543027	16.440
3	C18:3n3	42.917	1597320	49.964

## 29. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 5 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



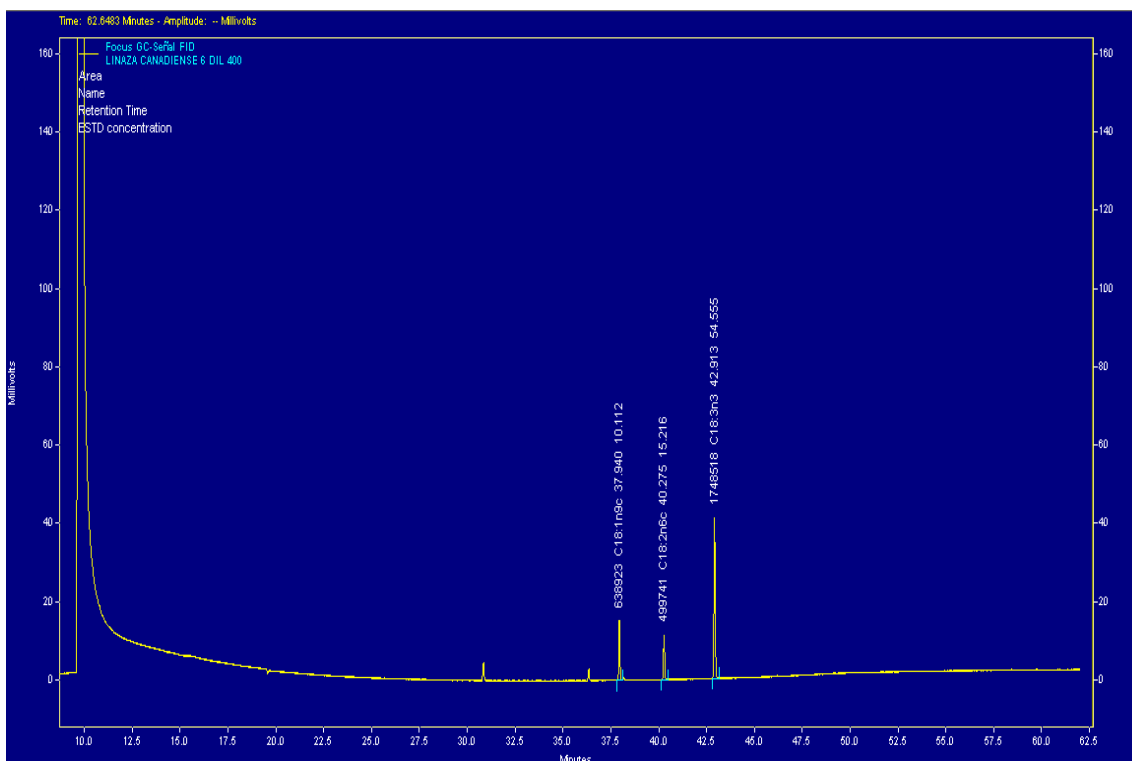
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 5 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/27/2014 9:06:13 PM  
**Printed:** 6/4/2014 3:55:45 PM



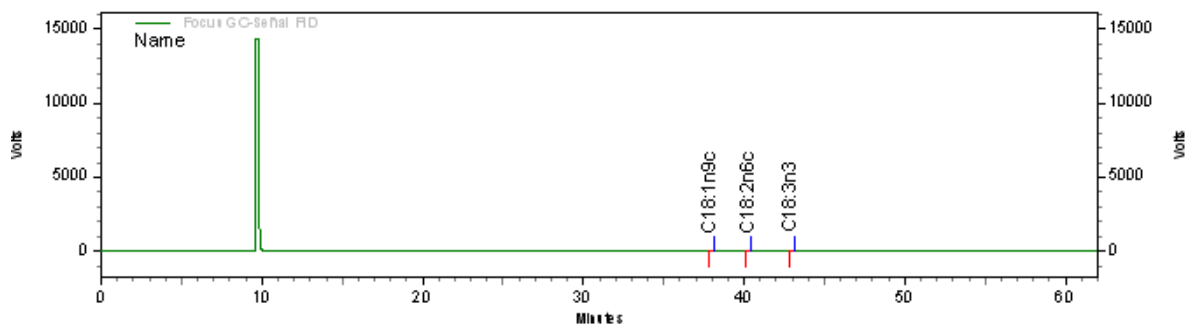
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 3:55:06**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	549276	8.837
2	C18:2n6c	40.272	423906	13.071
3	C18:3n3	42.915	1534735	48.064

### 30. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 6 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



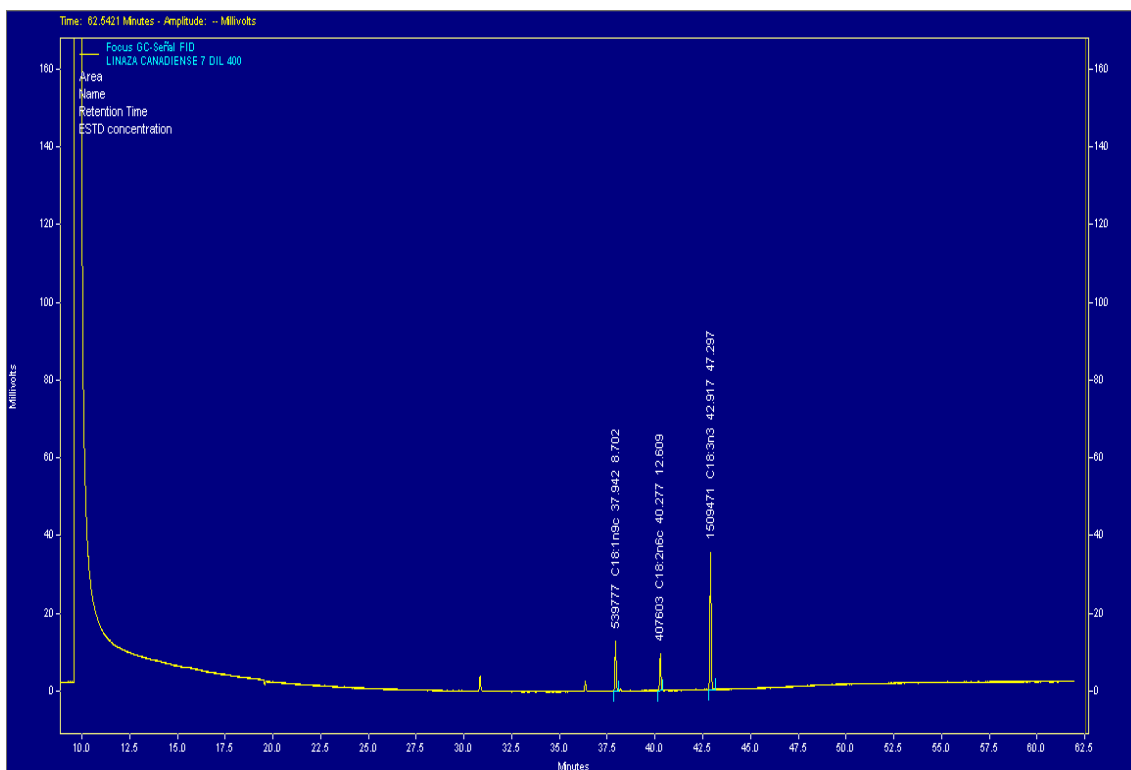
Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 6 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/27/2014 10:12:50 PM  
 Printed: 6/4/2014 3:56:53 PM



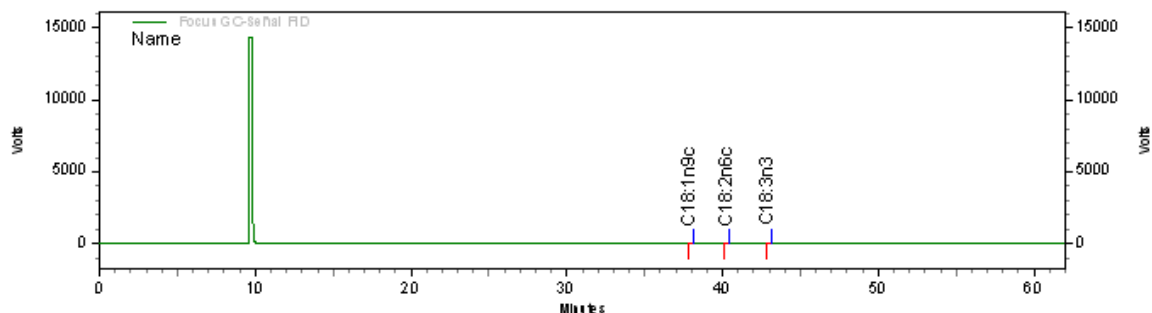
Focus GC-Sigal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:56:13  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	638923	10.112
2	C18:2n6c	40.275	499741	15.216
3	C18:3n3	42.913	1748518	54.555

### 31. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 7 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



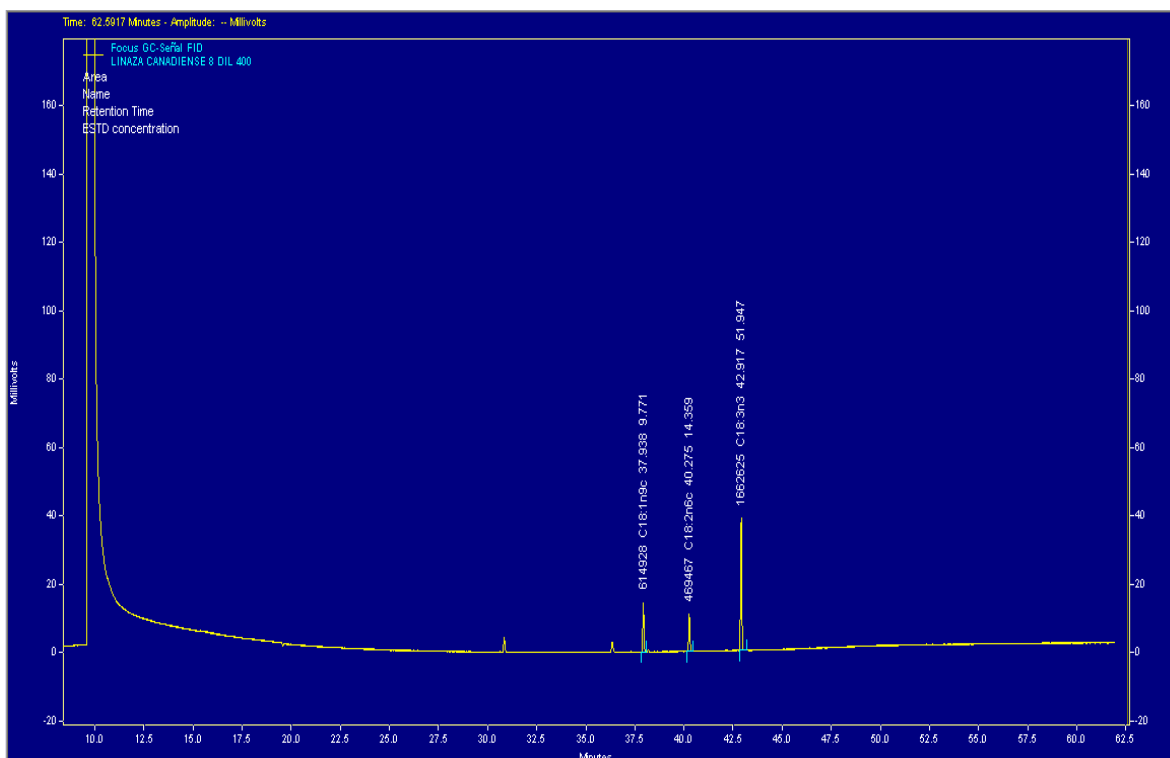
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 7 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/27/2014 11:19:26 PM  
**Printed:** 6/4/2014 3:58:04 PM



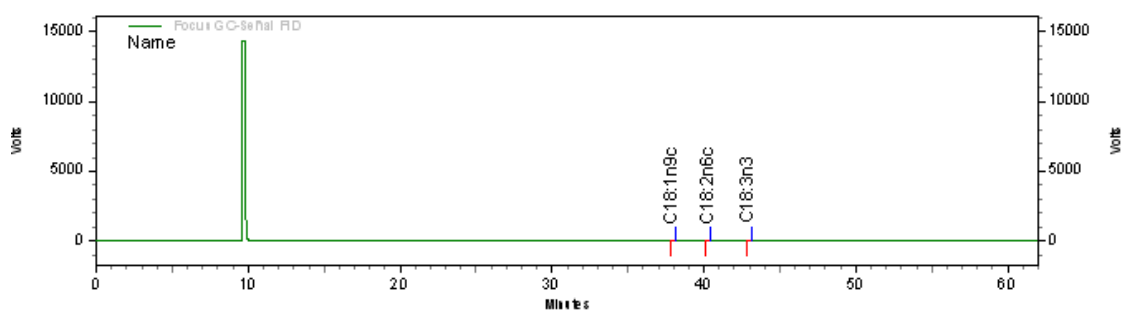
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 3:57:20**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.942	539777	8.702
2	C18:2n6c	40.277	407603	12.609
3	C18:3n3	42.917	1509471	47.297

## 32. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 8 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



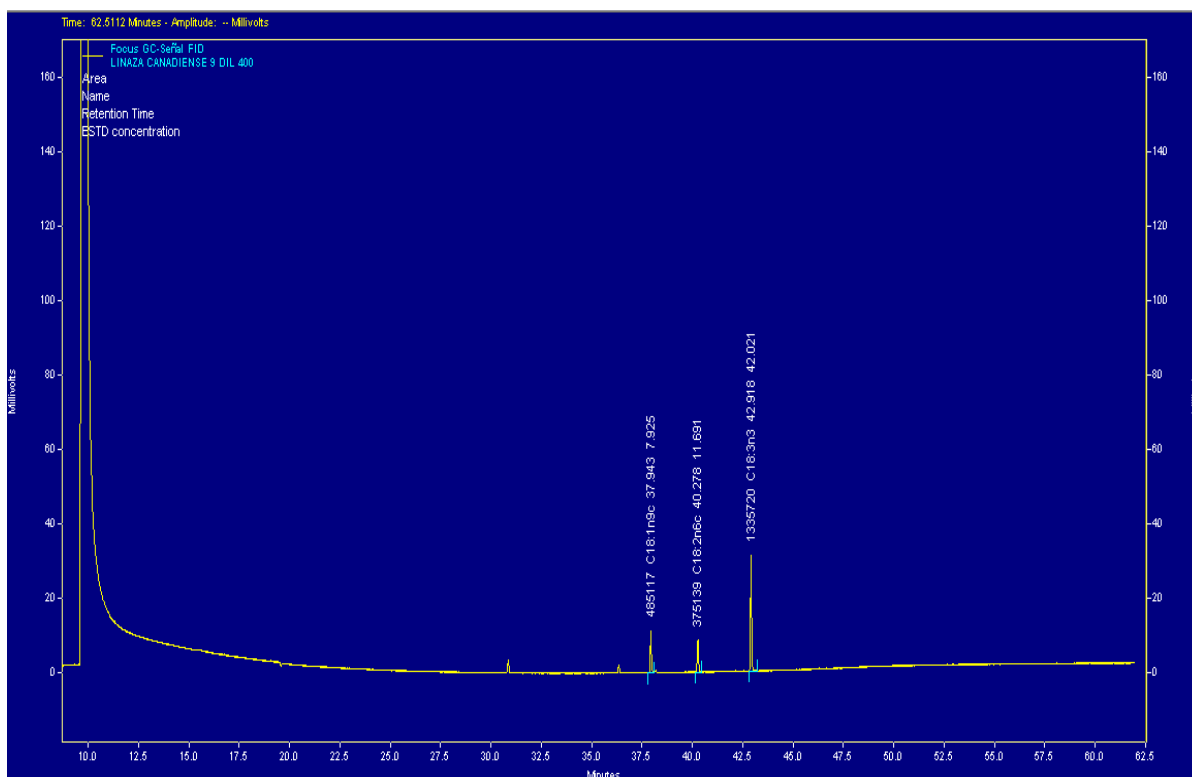
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 8 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 12:26:03 AM  
**Printed:** 6/4/2014 3:58:54 PM



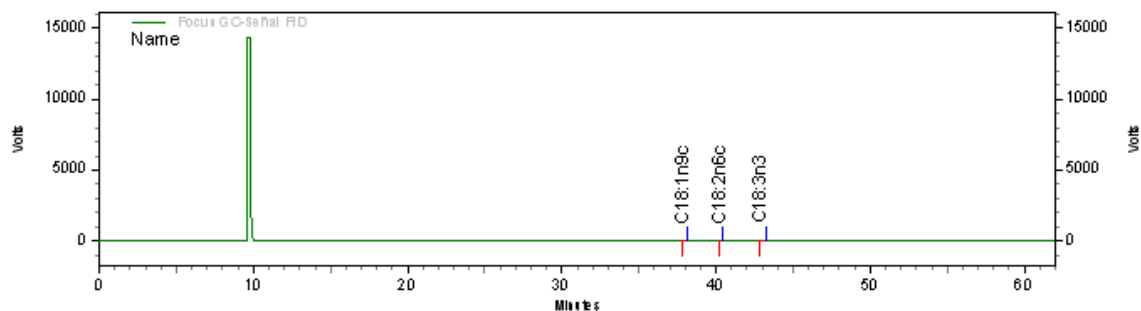
Focus GC-Signal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:58:28  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.938	614928	9.771
2	C18:2n6c	40.275	469467	14.359
3	C18:3n3	42.917	1662625	51.947

### 33. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 9 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



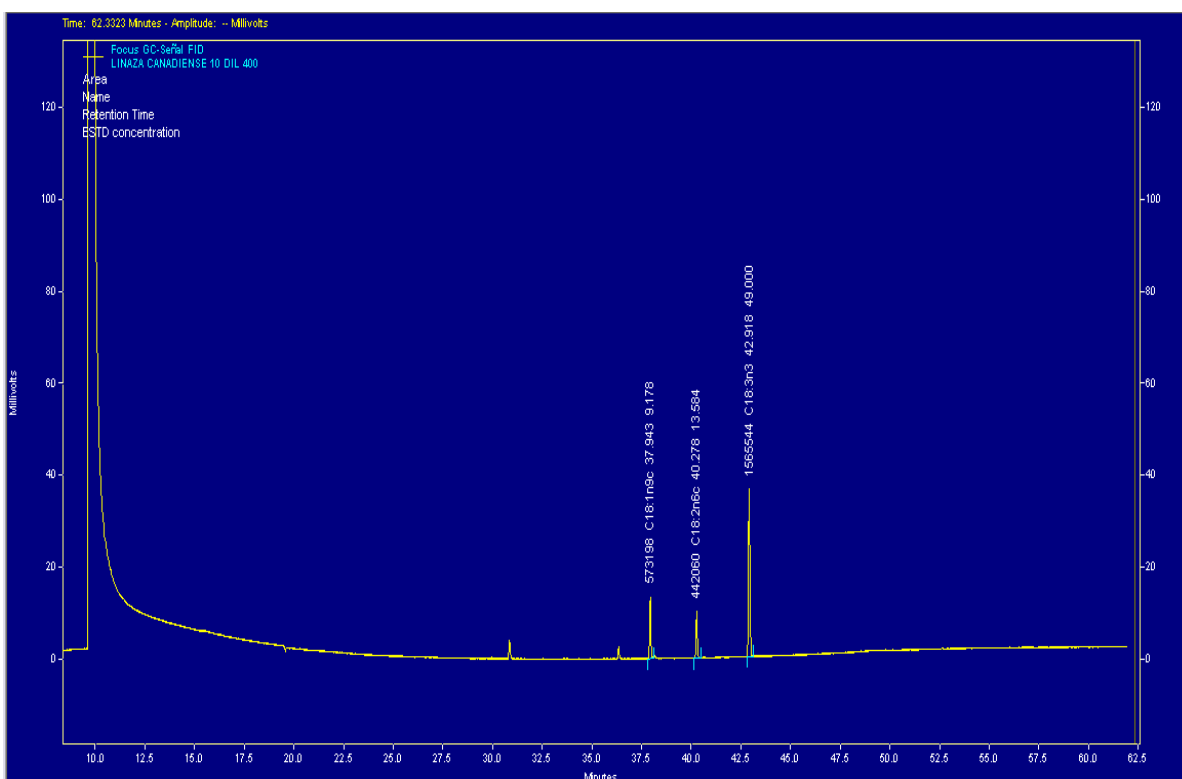
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 9 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 1:32:39 AM  
 Printed: 6/4/2014 3:59:57 PM



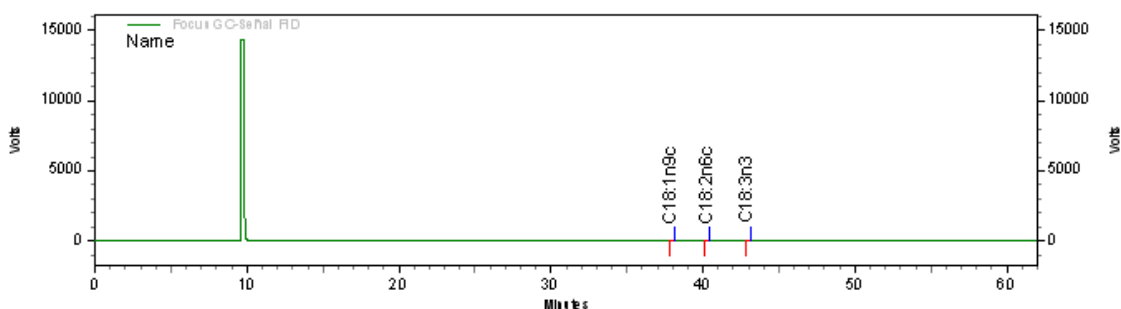
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 3:59:13  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	485117	7.925
2	C18:2n6c	40.278	375139	11.691
3	C18:3n3	42.918	1335720	42.021

### 34. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 10 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



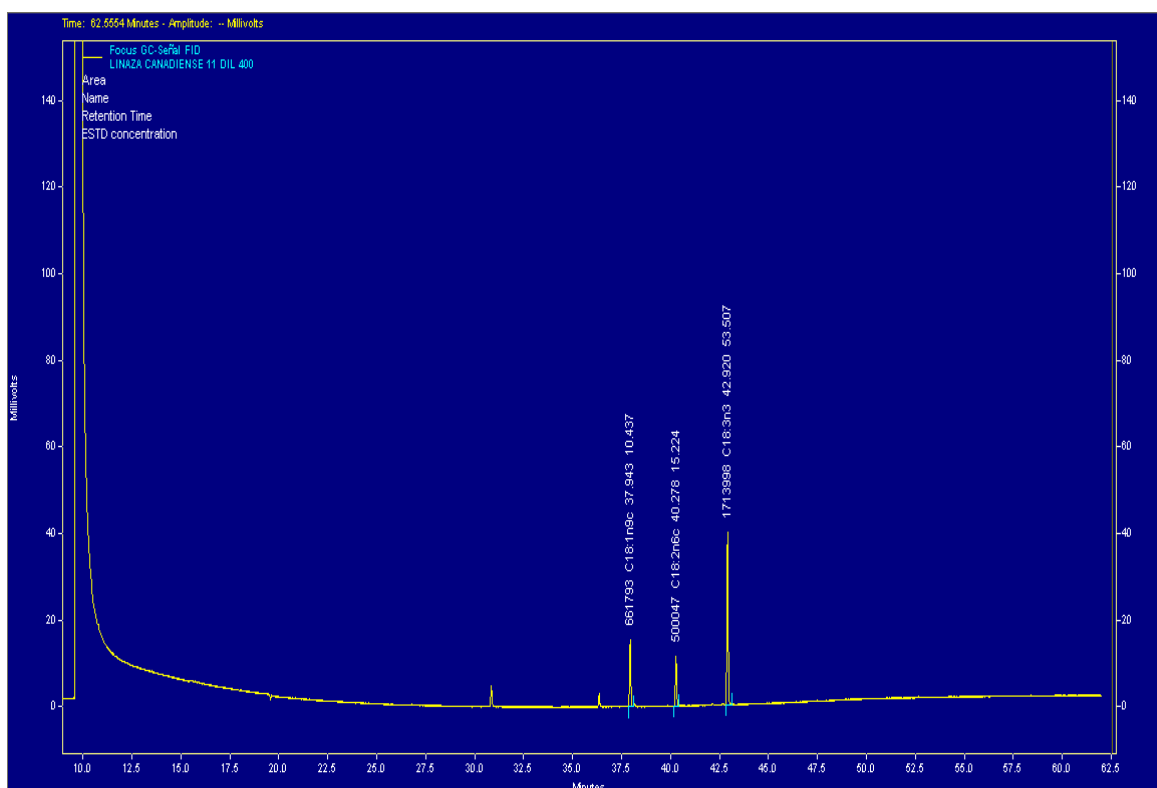
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 10 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 2:39:15 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:01:06 PM



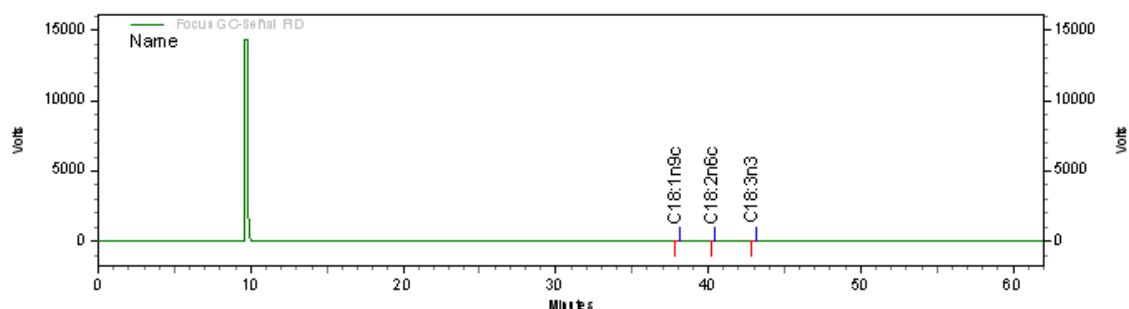
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:00:21  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	573198	9.178
2	C18:2n6c	40.278	442060	13.584
3	C18:3n3	42.918	1565544	49.000

### 35. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 11 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



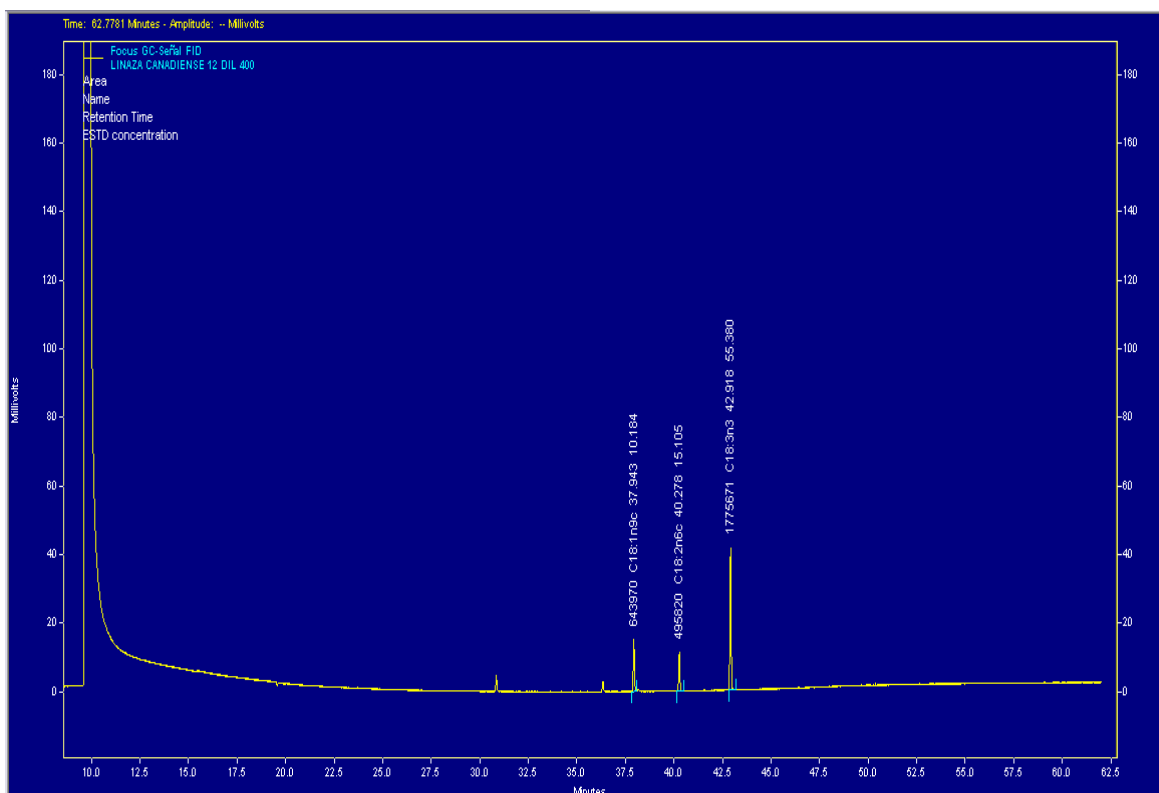
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 11 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 3:45:51 AM  
**Printed:** 6/4/2014 4:02:03 PM



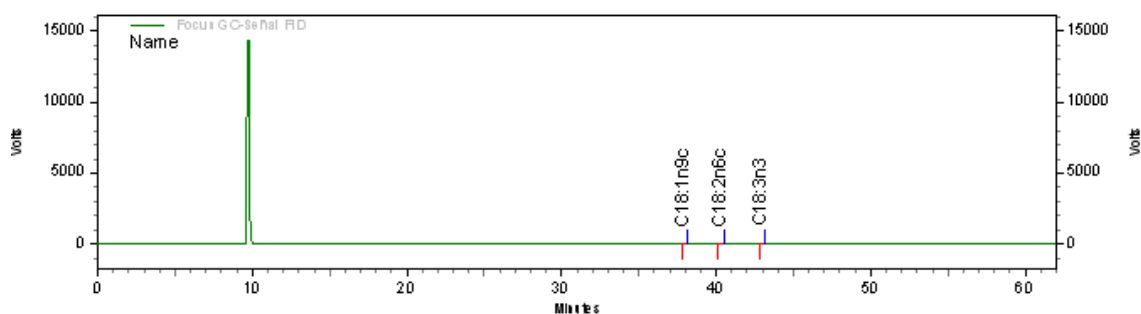
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:01:38**  
**PM) (Reprocessed))**

<i>Pk #</i>	<i>Name</i>	<i>Retention Time</i>	<i>Area</i>	<i>Concentration</i>
1	C18:1n9c	37.943	661793	10.437
2	C18:2n6c	40.278	500047	15.224
3	C18:3n3	42.920	1713998	53.507

### 36. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 12 DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE CON DILUCIÓN 400



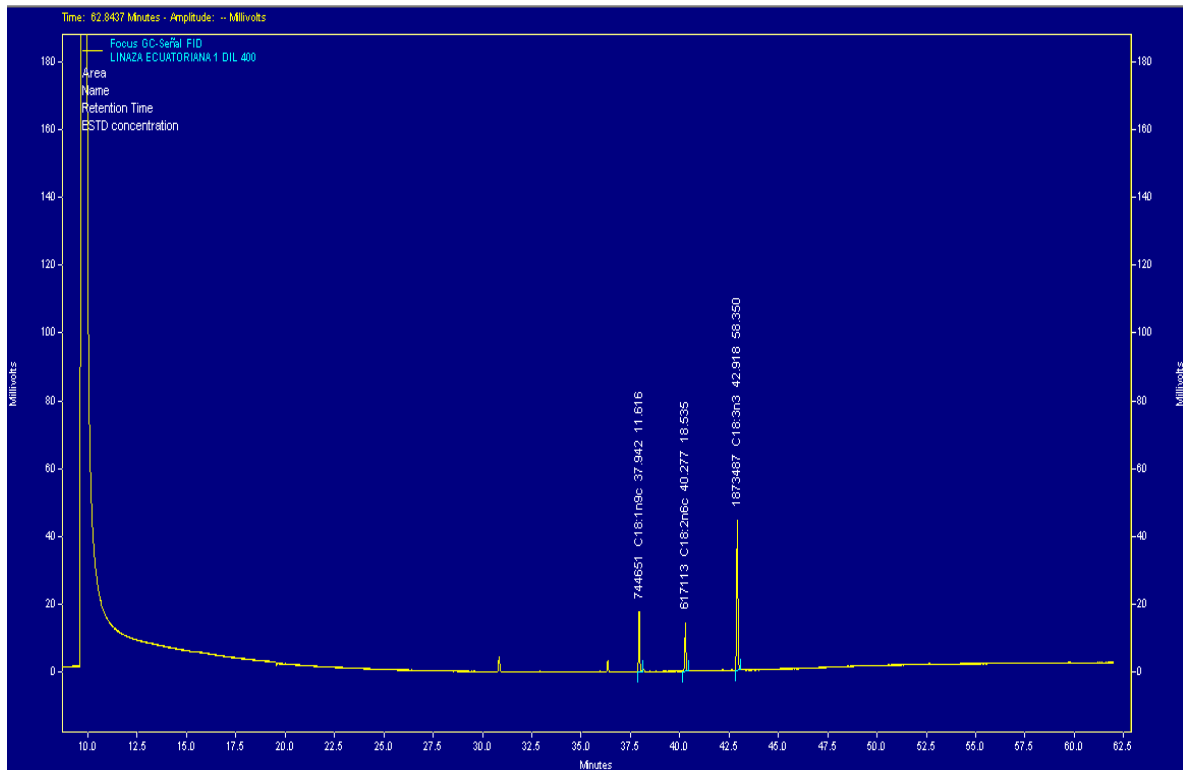
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA CANADIENSE 12 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 4:52:31 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:03:06 PM



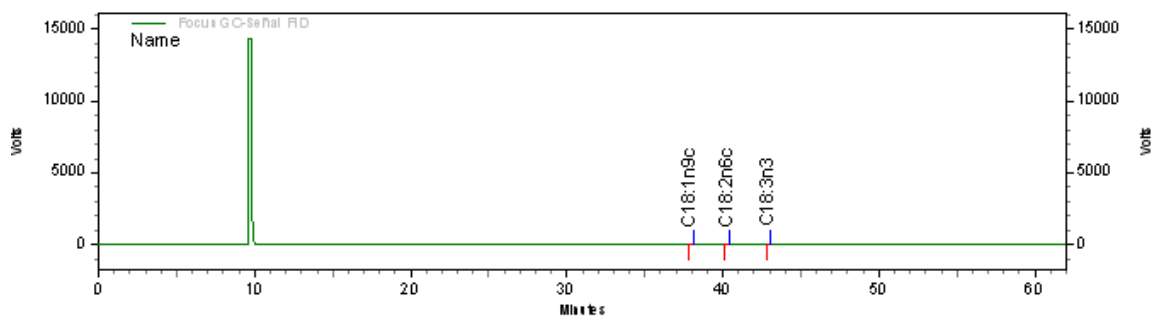
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:02:25  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.943	643970	10.184
2	C18:2n6c	40.278	495820	15.105
3	C18:3n3	42.918	1775671	55.380

### 37. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 1 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



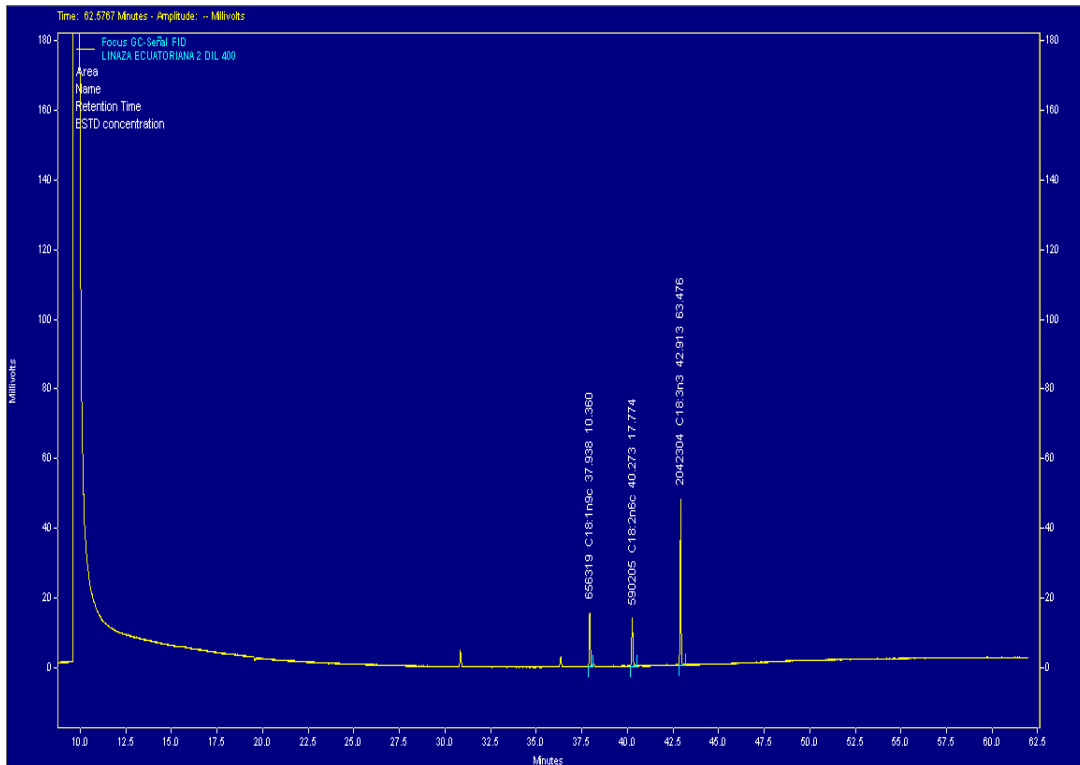
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL A\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 1 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 5:59:06 AM  
**Printed:** 6/4/2014 4:04:16 PM



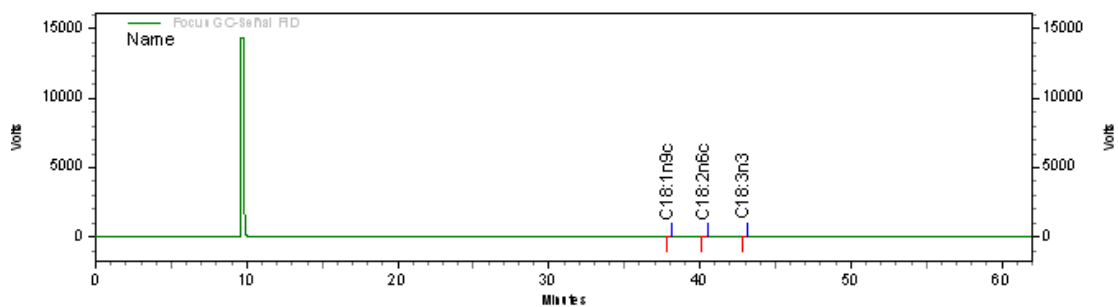
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:03:52**  
**PM) (Reprocessed))**

<i>Pk #</i>	<i>Name</i>	<i>Retention Time</i>	<i>Area</i>	<i>Concentration</i>
1	C18:1n9c	37.942	744651	11.616
2	C18:2n6c	40.277	617113	18.535
3	C18:3n3	42.918	1873487	58.350

### 38. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 2 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



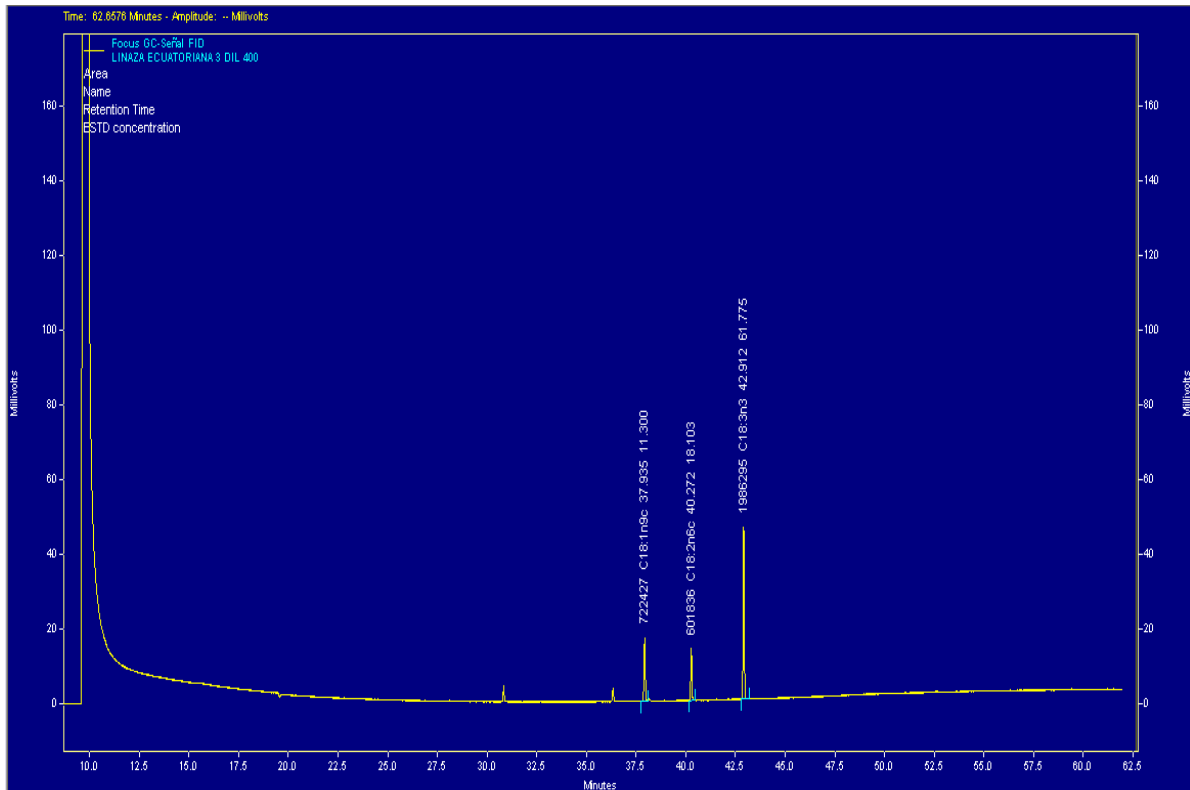
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 2 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 7:05:46 AM  
**Printed:** 6/4/2014 4:05:01 PM



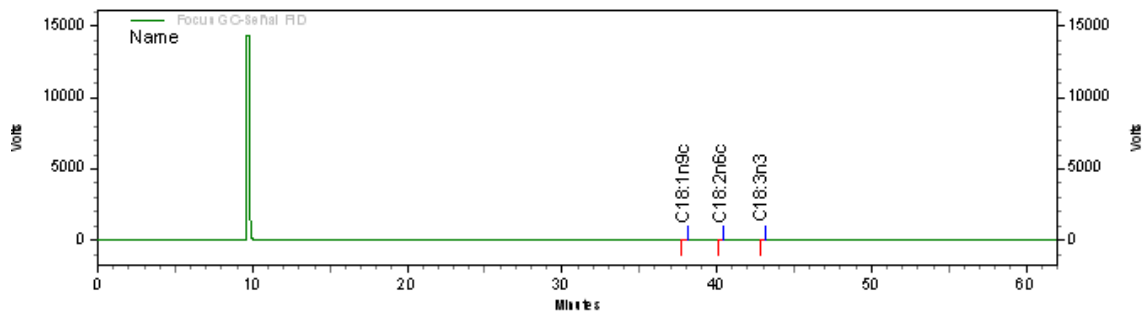
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:04:38**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.938	656319	10.360
2	C18:2n6c	40.273	590205	17.774
3	C18:3n3	42.913	2042304	63.476

### 39. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 3 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



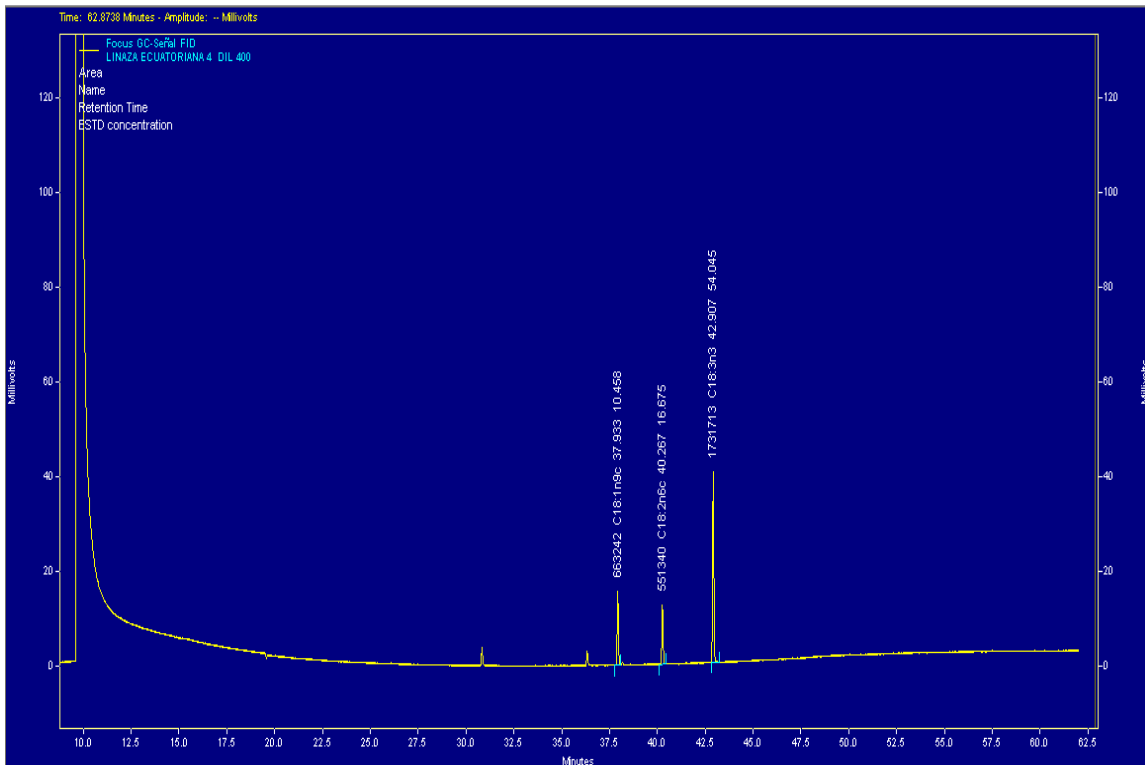
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 3 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 8:12:22 AM  
**Printed:** 6/4/2014 4:06:00 PM



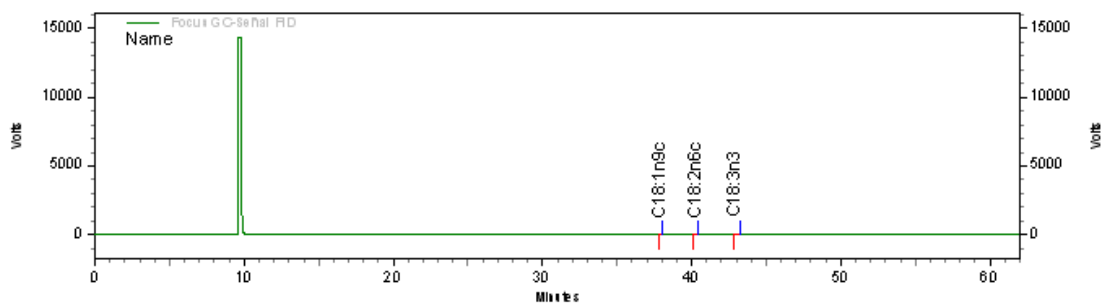
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:05:23  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.935	722427	11.300
2	C18:2n6c	40.272	601836	18.103
3	C18:3n3	42.912	1986295	61.775

## 40. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 4 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



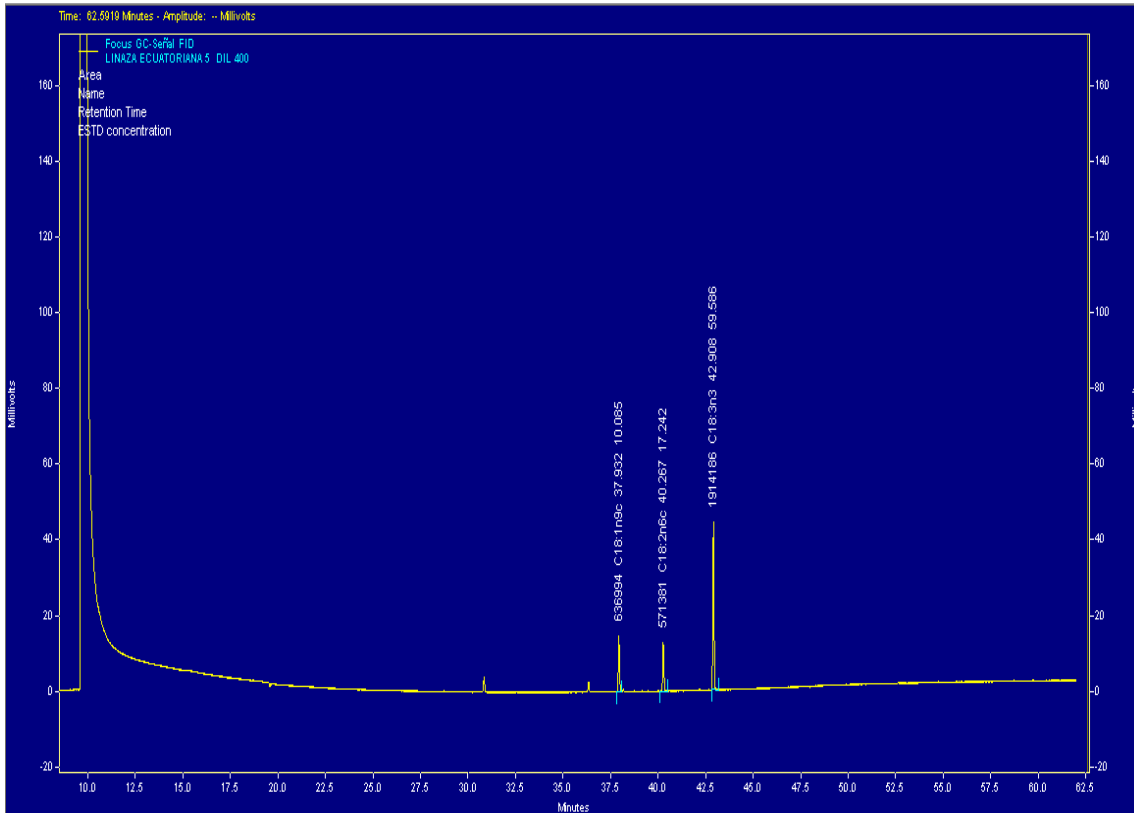
Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 4 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 9:19:02 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:06:50 PM



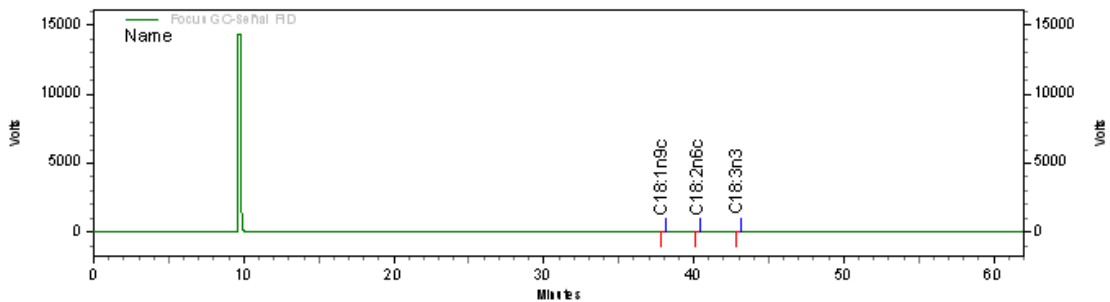
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:06:26  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.933	663242	10.458
2	C18:2n6c	40.267	551340	16.675
3	C18:3n3	42.907	1731713	54.045

# 41. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 5 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



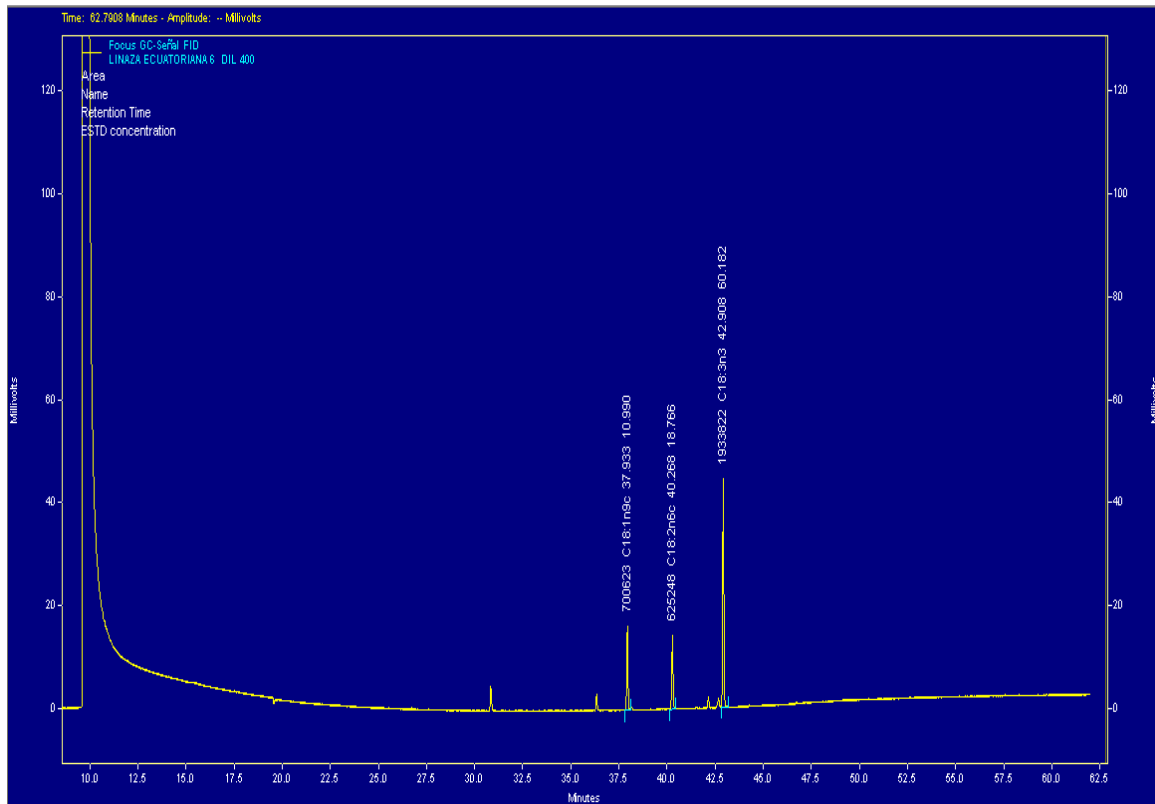
Method Name: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 5 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 10:25:40 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:07:33 PM



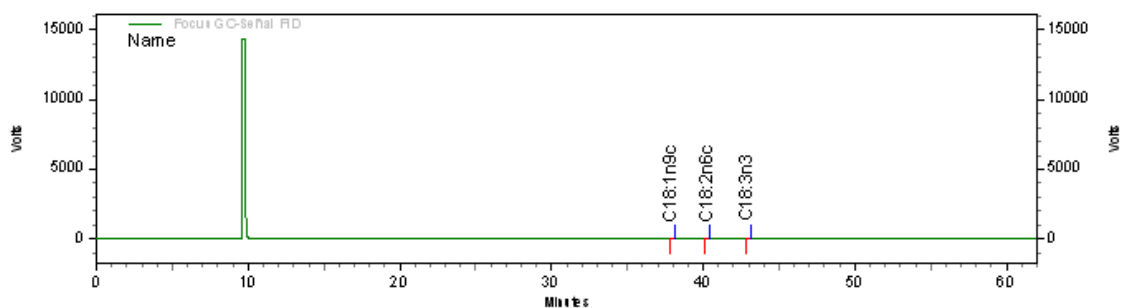
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:07:13  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.932	636994	10.085
2	C18:2n6c	40.267	571381	17.242
3	C18:3n3	42.908	1914186	59.586

## 42. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 6 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



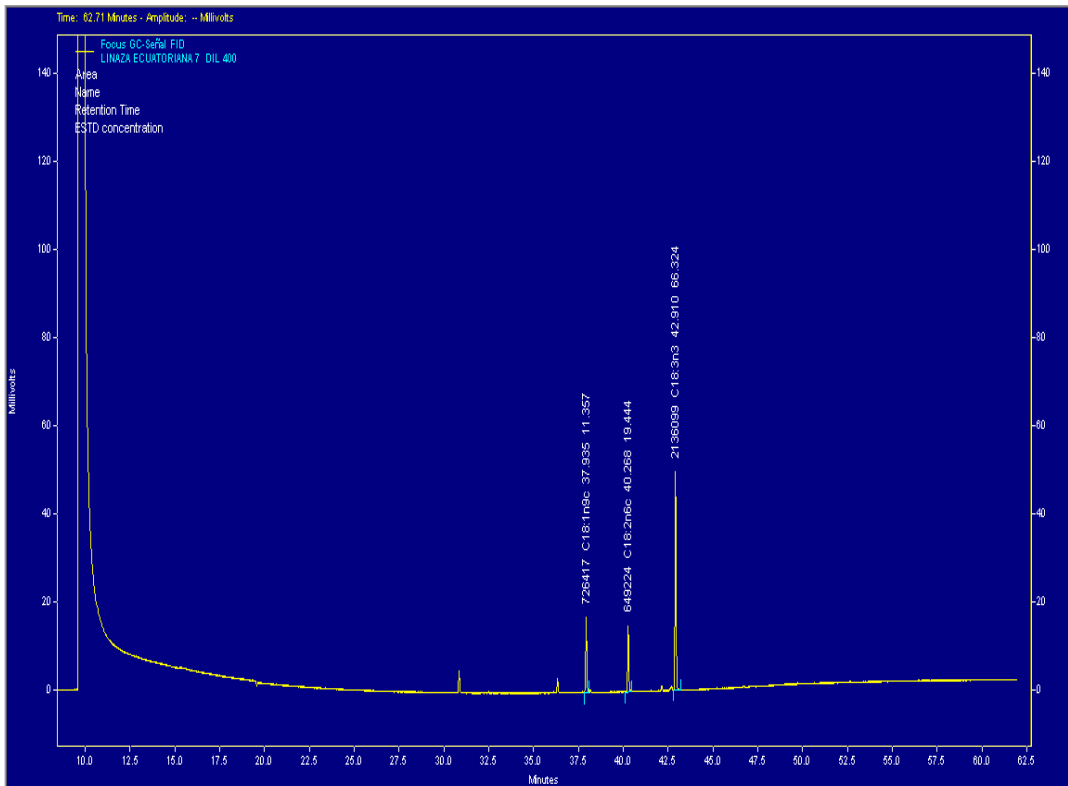
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 6 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 11:32:20 AM  
 Printed: 6/4/2014 4:08:22 PM



Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:07:55  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.933	700623	10.990
2	C18:2n6c	40.268	625248	18.766
3	C18:3n3	42.908	1933822	60.182

### 43. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 7 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



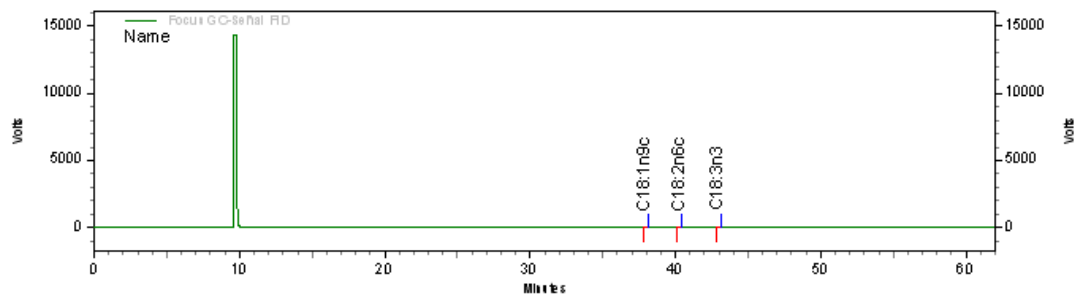
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDL\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met

**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 7 DIL 400

**User:** System

**Acquired:** 5/28/2014 12:38:56 PM

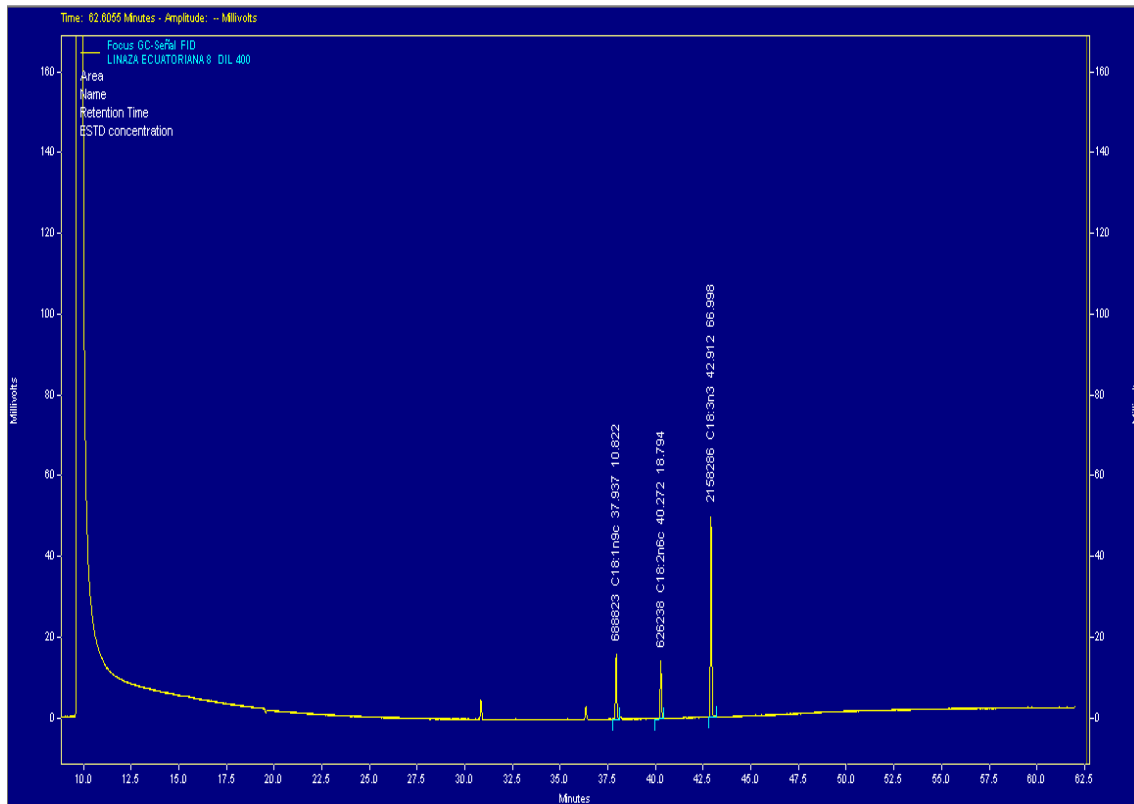
**Printed:** 6/4/2014 4:09:32 PM



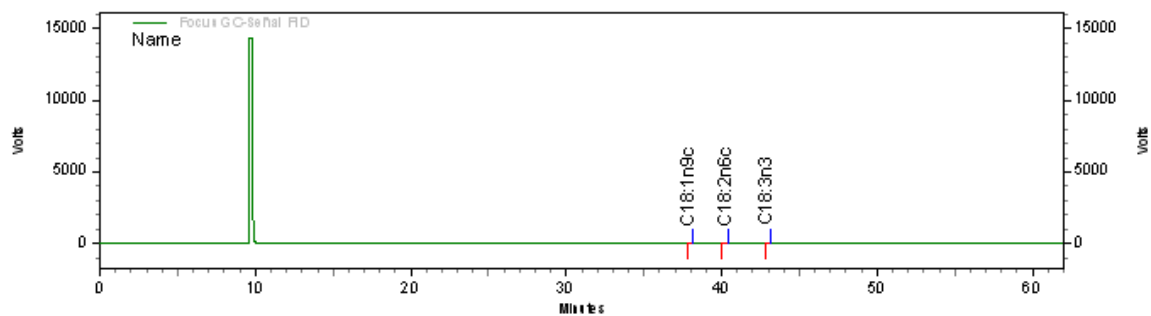
**Focus GC-Serial  
FID Results (System  
(6/4/2014 4:09:08  
PM) (Reprocessed))**

<i>Pk #</i>	<i>Name</i>	<i>Retention Time</i>	<i>Area</i>	<i>Concentration</i>
1	C18:1n9c	37.935	726417	11.357
2	C18:2n6c	40.268	649224	19.444
3	C18:3n3	42.910	2136099	66.324

## 44. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 8 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



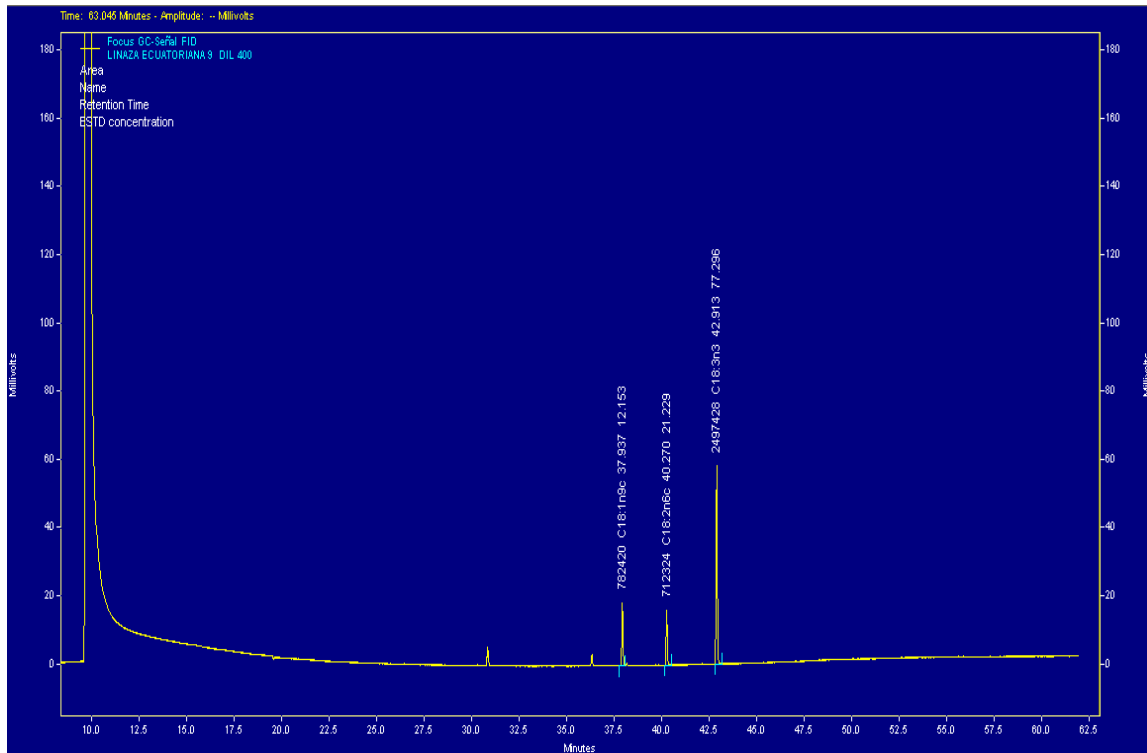
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 8 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 1:45:34 PM  
**Printed:** 6/4/2014 4:10:20 PM



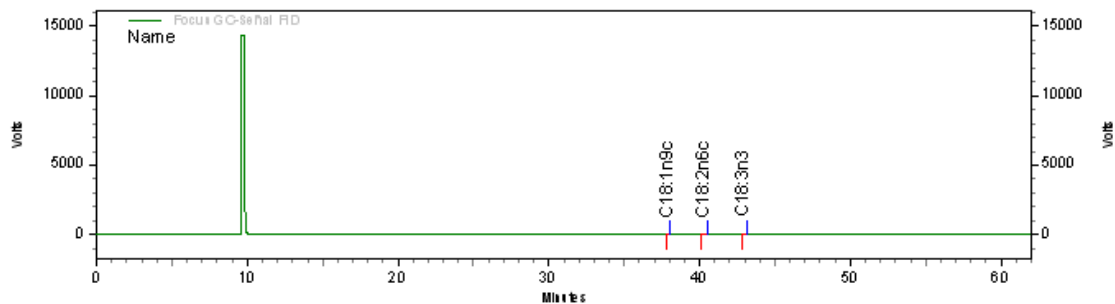
**Focus GC-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:09:58**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n7c	37.937	688823	10.822
2	C18:2n6c	40.272	626238	18.794
3	C18:3n3	42.912	2158286	66.998

## 45. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 9 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



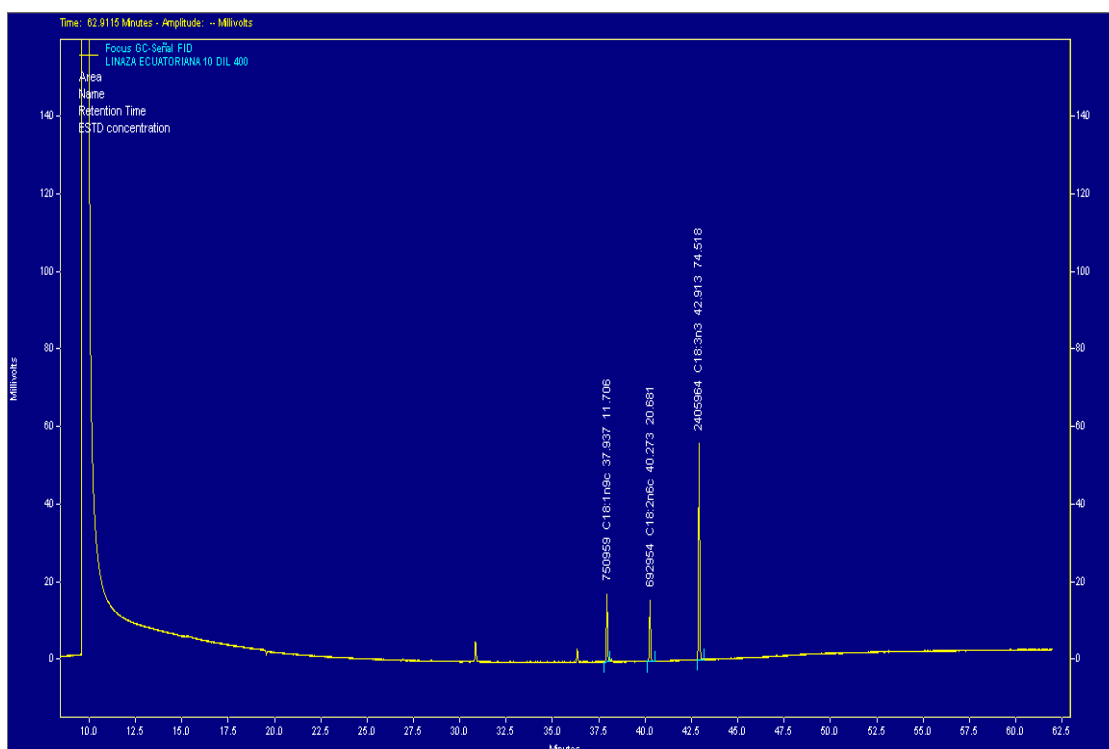
**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 9 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 2:52:09 PM  
**Printed:** 6/4/2014 4:11:13 PM



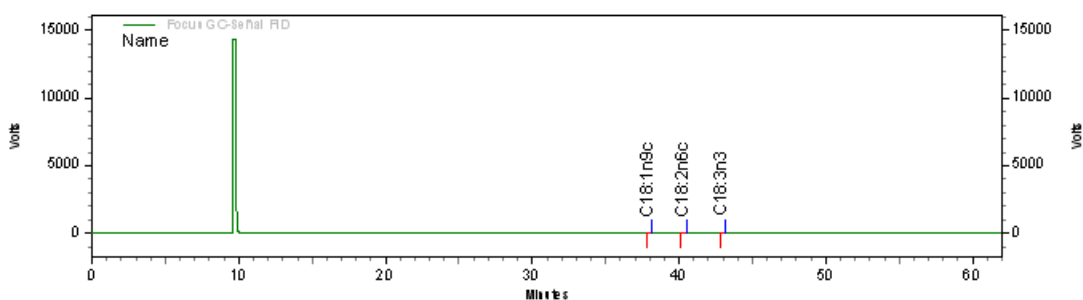
**Focus G-C-Señal**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:10:47**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	782420	12.153
2	C18:2n6c	40.270	712324	21.229
3	C18:3n3	42.913	2497428	77.296

## 46. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 10 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



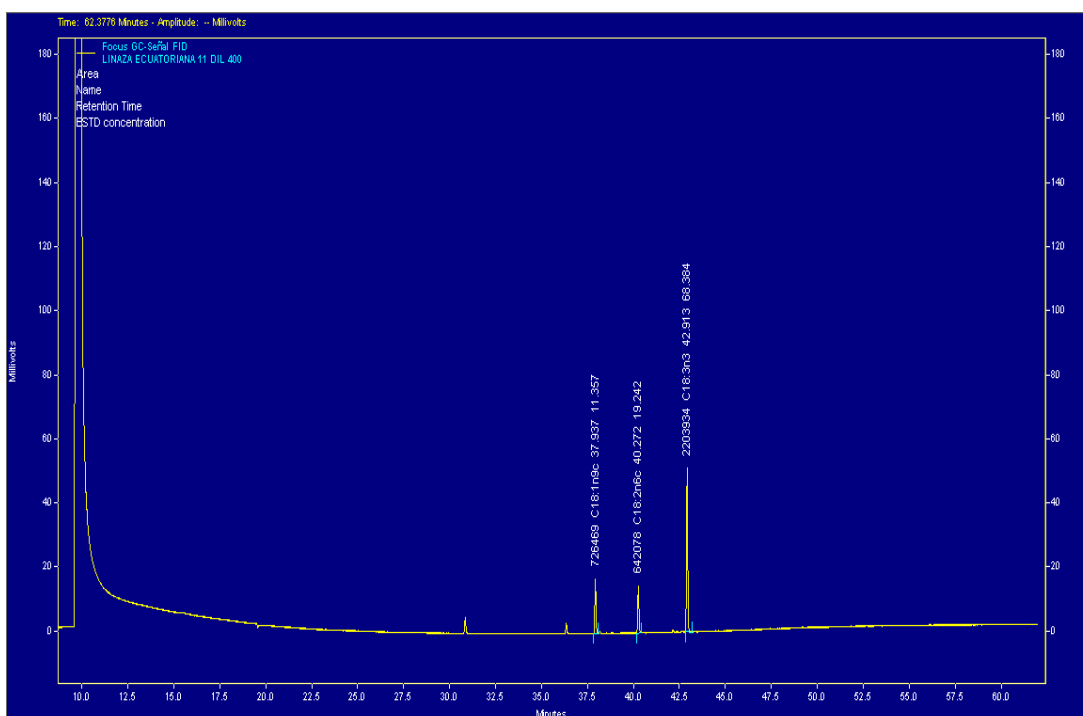
Method Name: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
 Data: C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 10 DIL 400  
 User: System  
 Acquired: 5/28/2014 3:58:45 PM  
 Printed: 6/4/2014 4:12:06 PM



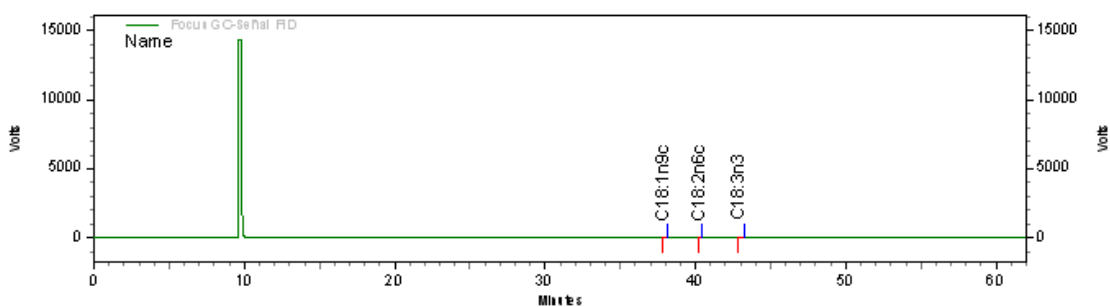
Focus GC-Señal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:11:36  
 PM) (Reprocessed))

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	750959	11.706
2	C18:2n6c	40.273	692954	20.681
3	C18:3n3	42.913	2405964	74.518

## 47. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 11 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



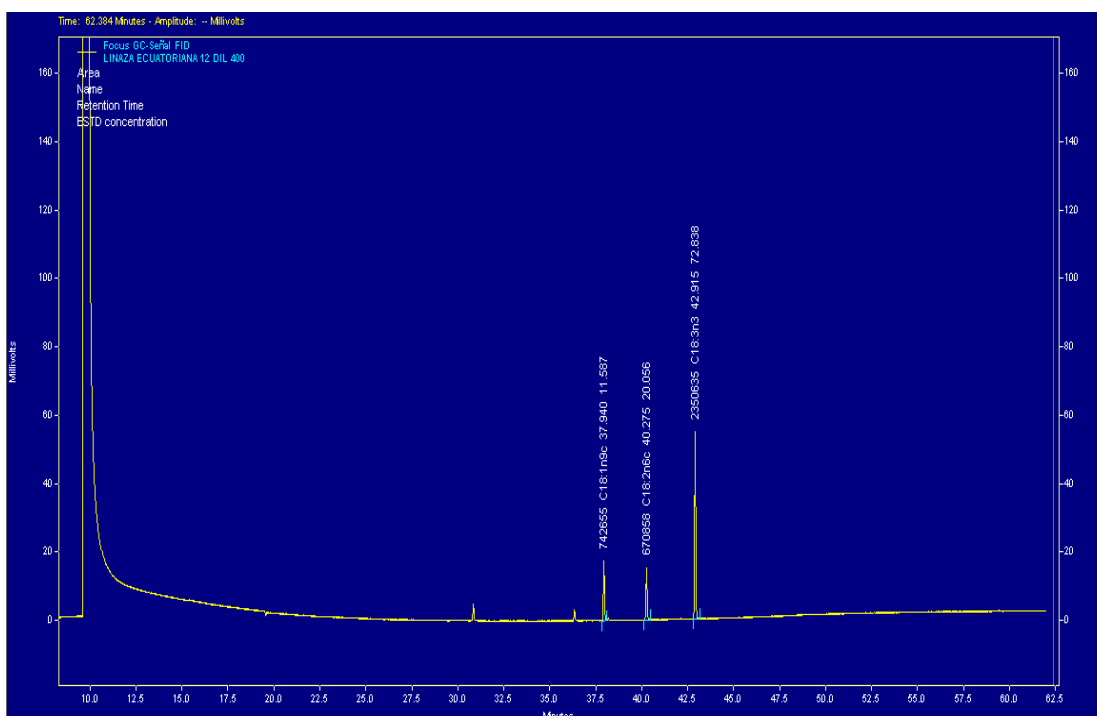
**Method Name:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\ChromQuest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 11 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 5:05:21 PM  
**Printed:** 6/4/2014 4:13:03 PM



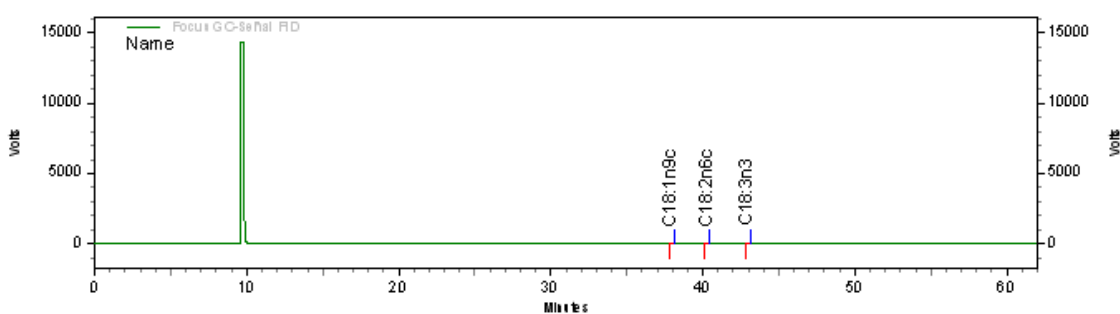
Focus GC-Signal  
 FID Results (System  
 (6/4/2014 4:12:35  
 PM) (Reprocessed))

PK #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.937	726469	11.357
2	C18:2n6c	40.272	642078	19.242
3	C18:3n3	42.913	2203934	68.384

## 48. CROMATOGRAMA Y REPORTE DE ÁCIDOS GRASOS DE MUESTRA 12 DE SEMILLA DE LINO ECUATORIANA CON DILUCIÓN 400



**Method Name:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Method\SEIDLA\curva\ACIDOS GRASOS SPLIT 50.met  
**Data:** C:\Chrom Quest\Enterprise\Projects\Default\Data\LINAZA ECUATORIANA 12 DIL 400  
**User:** System  
**Acquired:** 5/28/2014 6:12:02 PM  
**Printed:** 6/4/2014 4:13:49 PM



**Focus GC-Serial**  
**FID Results (System**  
**(6/4/2014 4:13:25**  
**PM) (Reprocessed))**

Pk #	Name	Retention Time	Area	Concentration
1	C18:1n9c	37.940	742655	11.587
2	C18:2n6c	40.275	670858	20.056
3	C18:3n3	42.915	2350635	72.838

## **ANEXO 6**

### **EQUIPOS EMPLEADOS**

#### **1. MOLINO**



Molino S/MA

#### **2. BALANZA ANALÍTICA**



Balanza Analítica Shimadzu

### 3. ESTUFA



Estufa con regulador de temperatura Fanem

### 4. SISTEMA SOXHLET DE EXTRACCIÓN



Equipo de vidrio Soxhlet de extracción de grasa Metrexlabs (Soxmetrex 6P)

## 5. CENTRIFUGA



Centrifugadora Clay Adams

## 6. CROMATÓGRAFO DE GASES



Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific 10901019 GC Focus provisto de detector FID, inyector automático y columna Capilar TG – Polar.

# ANEXO 7

## COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ESTANDAR SUPELCO 37 COMP. FAME MIX

### Certificate of Composition

DESCRIPTION: Supelco 37 Comp. FAME Mix 10mg/ml in CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>

CATALOG NO.: 47885-U  
LOT NO.: LB-98963

MFG. DATE: Mar 2013  
EXP. DATE: Mar 2016

ANALYTE	CAS NO.	PURITY (1)	WEIGHT% (2)	SUPELCO LOT NO.
MYRISTOLEIC ACID METHYL ESTER	56219-06-8	99.9	2.04	LB87592
CIS-10-PENTADECENOIC ACID METH	90176-52-6	99.0 (a)	1.99	LB92709
LINOLELAIDIC ACID METHYL ESTER	2566-97-4	99.9	1.99	LB91459
GAMMA-LINOLENIC ACID METHYL ES	16326-32-2	99.9	2.00	LB91798
METHYL CIS-5,8,11,14-EICOSATET	2566-89-4	98.8	1.99	LB88820
ALL CIS-4,7,10,13,16,19-DOCOSA	2566-90-7	99.9	2.01	LB86446
METHYL CIS-5,8,11,14,17-EICOSA	2734-47-6	99.8	1.99	LB95206
METHYL BUTYRATE	623-42-7	99.9	4.01	LB63798
METHYL HEXANOATE	106-70-7	99.9	3.99	LB78270
METHYL OCTANOATE	111-11-5	99.9	3.99	LB84159
METHYL DECANOATE (CAPRATE)	110-42-9	99.9	3.99	LB86422
METHYL UNDECANOATE	1731-86-8	99.5	2.00	LB79889
METHYL LAURATE	111-82-0	99.8	3.99	LB32645
METHYL TRIDECANOATE	1731-88-0	99.9	1.99	LB79989
METHYL MYRISTATE	124-10-7	99.9	4.00	LB89997
METHYL PENTADECANOATE	7132-64-1	99.9	2.00	LB84181
METHYL PALMITATE	112-39-0	99.7	6.02	LB88583
METHYL HEPTADECANOATE	1731-92-6	99.6	2.00	LB87552
METHYL STEARATE	112-61-8	99.9	3.99	LB97274
METHYL HENEICOSANOATE	6064-90-0	99.9	1.99	LB85704
METHYL BEHENATE	929-77-1	99.8	4.01	LB89082
METHYL TRICOSANOATE	2433-97-8	99.6	2.00	LB81902
METHYL PALMITOLEATE (METHYL CI	1120-25-8	99.8	1.99	LB88429
CIS-9-OLEIC METHYL ESTER	112-62-9	99.9	3.99	LB91078
METHYL LINOLEATE	112-63-0	99.9	2.00	LB92660
METHYL ERUCATE (CIS-13-DOCOSEN	1120-34-9	99.9	2.01	LB87179
METHYL NERVONATE	2733-88-2	99.9	2.00	LB95090
METHYL ARACHIDATE	1120-28-1	99.9	4.02	LB88395
METHYL LIGNOCERATE	2442-49-1	99.9	3.99	LB90233

(1) Determined by GC-FID unless otherwise noted.

(a) Resale Item.

(2) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.

NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

*Duane Funk*

Duane Funk  
Quality Manager

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

**SUPELCO**  
Solutions within.™

595 North Harrison Road  
Bellefonte, PA 16823-0048 USA  
Phone (814) 359-3441

# Certificate of Composition

DESCRIPTION: Supelco 37 Comp. FAME Mix 10mg/ml in CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>

CATALOG NO.: 47885-U  
LOT NO.: LB-98963

MFG. DATE: Mar 2013  
EXP. DATE: Mar 2016

ANALYTE	CAS NO.	PURITY (1)	WEIGHT% (2)	SUPELCO LOT NO.
TRANS-9-ELAIDIC METHYL ESTER	1937-62-8	99.6	2.00	LB86233
METHYL LINOLENATE	301-00-8	99.6	2.00	LB89405
METHYL EICOSENOATE	2390-09-2	99.9	2.03	LB88582
CIS-10-HEPTADECENOIC ACID METH	75190-82-8	99.9	1.99	LB97262
CIS-11,14-EICOSADIENOIC ACID M	2463-02-7	99.9	2.00	LB92980
CIS-11,14,17-EICOSATRIENOIC AC	55682-88-7	99.9	2.00	LB94324
CIS-8,11,14-EICOSATRIENOIC ACI	21061-10-9	99.9	2.00	LB89005
CIS-13,16-DOCOSADIENOIC ACID M	61012-47-3	99.9	1.99	LB90799

(1) Determined by GC-FID unless otherwise noted.

(a) Resale Item.

(2) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.

NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

*Duane Funk*

Duane Funk  
Quality Manager

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

**SUPELCO**  
Solutions within.™

595 North Harrison Road  
Bellefonte, PA 16823-0048 USA  
Phone (814) 359-3441

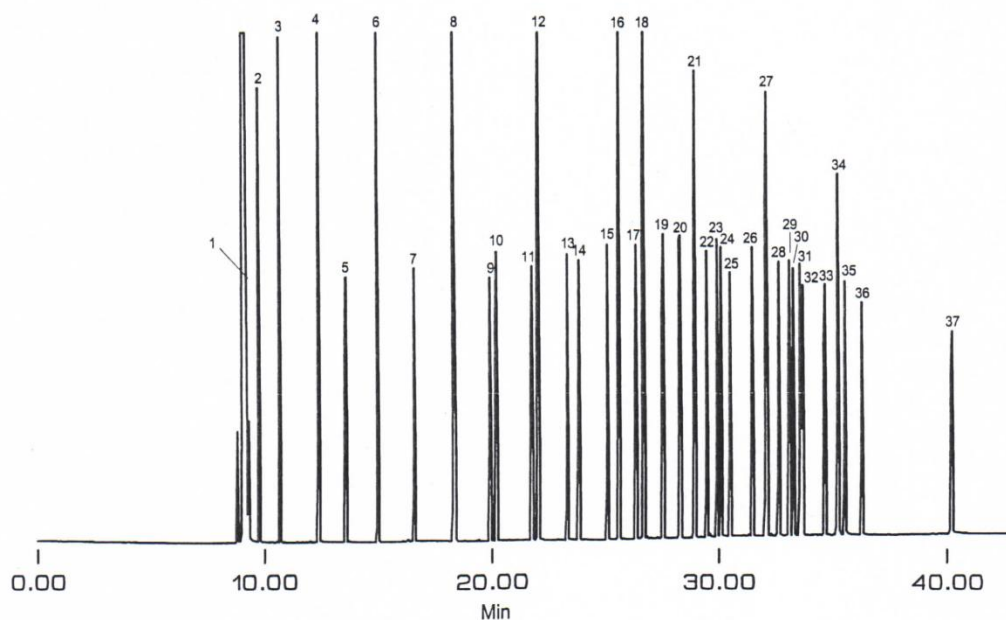
This Data Sheet Contains Important Information About The Product.

### Supelco™ 37 Component FAME Mix Catalog No. 47885-U

This fatty acid methyl ester (FAME) mixture is carefully prepared by weight. The weight percentage of each component is indicated. Each ampule contains 10mg/mL of the FAME reference standard mix in methylene chloride.

Column: **SP™-2560, 100m x 0.25mm ID, 0.20µm film**  
Cat. No.: **24056**  
Oven: 140°C (5 min) to 240°C at 4°C/min  
Carrier: helium, 20cm/sec  
Det.: FID, 260°C  
Inj.: 1µL, 260°C, split 100:1

Component	Weight %
1. Butyric Acid Methyl Ester (C4:0)	4%
2. Caproic Acid Methyl Ester (C6:0)	4%
3. Caprylic Acid Methyl Ester (C8:0)	4%
4. Capric Acid Methyl Ester (C10:0)	4%
5. Undecanoic Acid Methyl Ester (C11:0)	2%
6. Lauric Acid Methyl Ester (C12:0)	4%
7. Tridecanoic Acid Methyl Ester (C13:0)	2%
8. Myristic Acid Methyl Ester (C14:0)	4%
9. Myristoleic Acid Methyl Ester (C14:1)	2%
10. Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:0)	2%
11. cis-10-Pentadecenoic Acid Methyl Ester (C15:1)	2%
12. Palmitic Acid Methyl Ester (C16:0)	6%
13. Palmitoleic Acid Methyl Ester (C16:1)	2%
14. Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:0)	2%
15. cis-10-Heptadecenoic Acid Methyl Ester (C17:1)	2%
16. Stearic Acid Methyl Ester (C18:0)	4%
17. Elaidic Acid Methyl Ester (C18:1n9t)	2%
18. Oleic Acid Methyl Ester (C18:1n7c)	4%
19. Linolelaidic Acid Methyl Ester (C18:2n6t)	2%
20. Linoleic Acid Methyl Ester (C18:2n6c)	2%
21. Arachidic Acid Methyl Ester (C20:0)	4%
22. γ-Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n6)	2%
23. cis-11-Eicosanoic Acid Methyl Ester (C20:1)	2%
24. Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n3)	2%
25. Heneicosanoic Acid Methyl Ester (C21:0)	2%
26. cis-11,14-Eicosadienoic Acid Methyl Ester (C20:2)	2%
27. Behenic Acid Methyl Ester (C22:0)	4%
28. cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n6)	2%
29. Erucic Acid Methyl Ester (C22:1n9)	2%
30. cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n3)	2%
31. Arachidonic Acid Methyl Ester (C20:4n6)	2%
32. Tricosanoic Acid Methyl Ester (C23:0)	2%
33. cis-13,16-Docosadienoic Acid Methyl Ester (C22:2)	2%
34. Lignoceric Acid Methyl Ester (C24:0)	4%
35. cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid Methyl Ester (C20:5n3)	2%
36. Nervonic Acid Methyl Ester (C24:1)	2%
37. cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid Methyl Ester (C22:6n3)	2%



795-0472

T795102A  
©1997 Sigma-Aldrich Co.

SUPELCO  
Bellefonte, PA



## ANEXO 9

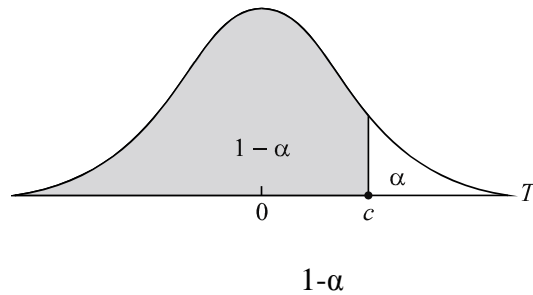
### TABLA ESTADISTICA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER

$1 - \alpha = 0.95$                        $v_1$  = grados de libertad del numerador  
 $1 - \alpha = P(F \leq f_{\alpha, v_1, v_2})$        $v_2$  = grados de libertad del denominador

$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	161.446	199.499	215.707	224.583	230.160	233.988	236.767	238.884	240.543	241.882	242.981	243.905	244.690	245.363	245.949	246.466	246.917	247.324	247.688	248.016
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.405	19.412	19.419	19.424	19.429	19.433	19.437	19.440	19.443	19.446
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.763	8.745	8.729	8.715	8.703	8.692	8.683	8.675	8.667	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.936	5.912	5.891	5.873	5.858	5.844	5.832	5.821	5.811	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.704	4.678	4.655	4.636	4.619	4.604	4.590	4.579	4.568	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.027	4.000	3.976	3.956	3.938	3.922	3.908	3.896	3.884	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.603	3.575	3.550	3.529	3.511	3.494	3.480	3.467	3.455	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.313	3.284	3.259	3.237	3.218	3.202	3.187	3.173	3.161	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.102	3.073	3.048	3.025	3.006	2.989	2.974	2.960	2.948	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.943	2.913	2.887	2.865	2.845	2.828	2.812	2.798	2.785	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.818	2.788	2.761	2.739	2.719	2.701	2.685	2.671	2.658	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.717	2.687	2.660	2.637	2.617	2.599	2.583	2.568	2.555	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.635	2.604	2.577	2.554	2.533	2.515	2.499	2.484	2.471	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.565	2.534	2.507	2.484	2.463	2.445	2.428	2.413	2.400	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.507	2.475	2.448	2.424	2.403	2.385	2.368	2.353	2.340	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.456	2.425	2.397	2.373	2.352	2.333	2.317	2.302	2.288	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.413	2.381	2.353	2.329	2.308	2.289	2.272	2.257	2.243	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.374	2.342	2.314	2.290	2.269	2.250	2.233	2.217	2.203	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.340	2.308	2.280	2.256	2.234	2.215	2.198	2.182	2.168	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.310	2.278	2.250	2.225	2.203	2.184	2.167	2.151	2.137	2.124
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321	2.283	2.250	2.222	2.197	2.176	2.156	2.139	2.123	2.109	2.096
22	4.301	3.443	3.049	2.817	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297	2.259	2.226	2.198	2.173	2.151	2.131	2.114	2.098	2.084	2.071
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275	2.236	2.204	2.175	2.150	2.128	2.109	2.091	2.075	2.061	2.048
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.621	2.508	2.423	2.355	2.300	2.255	2.216	2.183	2.155	2.130	2.108	2.088	2.070	2.054	2.040	2.027
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.198	2.165	2.136	2.111	2.089	2.069	2.051	2.035	2.021	2.007
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220	2.181	2.148	2.119	2.094	2.072	2.052	2.034	2.018	2.003	1.990
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204	2.166	2.132	2.103	2.078	2.056	2.036	2.018	2.002	1.987	1.974
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190	2.151	2.118	2.089	2.064	2.041	2.021	2.003	1.987	1.972	1.959
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177	2.138	2.104	2.075	2.050	2.027	2.007	1.989	1.973	1.958	1.945
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.126	2.092	2.063	2.037	2.015	1.995	1.976	1.960	1.945	1.932
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	2.038	2.003	1.974	1.948	1.924	1.904	1.885	1.868	1.853	1.839
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.986	1.952	1.921	1.895	1.871	1.850	1.831	1.814	1.798	1.784
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993	1.952	1.917	1.887	1.860	1.836	1.815	1.796	1.778	1.763	1.748
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346	2.231	2.143	2.074	2.017	1.969	1.928	1.893	1.863	1.836	1.812	1.790	1.771	1.753	1.737	1.722
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951	1.910	1.875	1.845	1.817	1.793	1.772	1.752	1.734	1.718	1.703
90	3.947	3.098	2.706	2.473	2.316	2.201	2.113	2.043	1.986	1.938	1.897	1.861	1.830	1.803	1.779	1.757	1.737	1.720	1.703	1.688
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.886	1.850	1.819	1.792	1.768	1.746	1.726	1.708	1.691	1.676
200	3.888	3.041	2.650	2.417	2.259	2.144	2.056	1.985	1.927	1.878	1.837	1.801	1.769	1.742	1.717	1.694	1.674	1.656	1.639	1.623
500	3.860	3.014	2.623	2.390	2.232	2.117	2.028	1.957	1.899	1.850	1.808	1.772	1.740	1.712	1.686	1.664	1.643	1.625	1.607	1.592
1000	3.851	3.005	2.614	2.381	2.223	2.108	2.019	1.948	1.889	1.840	1.798	1.762	1.730	1.702	1.676	1.654	1.633	1.614	1.597	1.581

## ANEXO 10

### TABLA ESTADISTICA DE DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT



<b>R</b>	<b>0.75</b>	<b>0.80</b>	<b>0.85</b>	<b>0.90</b>	<b>0.95</b>	<b>0.975</b>	<b>0.99</b>	<b>0.995</b>
<b>1</b>	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
<b>2</b>	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
<b>3</b>	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
<b>4</b>	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
<b>5</b>	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
<b>6</b>	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
<b>7</b>	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
<b>8</b>	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
<b>9</b>	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
<b>10</b>	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
<b>11</b>	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
<b>12</b>	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
<b>13</b>	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
<b>14</b>	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
<b>15</b>	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
<b>16</b>	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
<b>17</b>	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
<b>18</b>	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
<b>19</b>	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
<b>20</b>	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
<b>21</b>	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
<b>22</b>	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
<b>23</b>	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
<b>24</b>	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
<b>25</b>	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
<b>26</b>	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
<b>27</b>	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
<b>28</b>	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
<b>29</b>	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
<b>30</b>	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
<b>40</b>	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
<b>60</b>	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
<b>120</b>	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
$\infty$	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

## ANEXO 11

### CERTIFICADO DE PROCEDENCIA DE SEMILLA DE LINO CANADIENSE

Quito 14 abril del 2014

Yo, Fabio Nov con cédula de identidad número 1709275695 de la empresa Housewos Barcelona certifico que la linaza vendida a la Srta. Jessica Durán con cédula de identidad número 1920487766 es de origen CANADIENSE.

Este certificado será usado exclusivamente para sustento de la tesis titulada:  
"Comparación de ácidos grasos omega 3-6-9 en la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatoriana y canadiense por cromatografía de gases"



C.I: 1709275695

VENDEDOR



C.I: 1920487766

COMPRADOR

## ANEXO 12

### CERTIFICADO DE PROCEDENCIA DE LA SEMILLA DE LINO ECUATORIANA

Quito 23 febrero del 2014

Yo, Rosario Godoy con cédula de identidad número 1700530006 de la empresa Local 11 Mercado Inaquito certifico que la linaza vendida a la Srta. Jessica Durán con cédula de identidad número 1720487766 es de origen ECUATORIANA.

Este certificado será usado exclusivamente para sustento de la tesis titulada:  
"Comparación de ácidos grasos omega 3-6-9 en la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatoriana y canadiense por cromatografía de gases"

  
C.I. 1700530006  
VENDEDOR

  
C.I. 1720487766  
COMPRADOR

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Jessica del Pilar Durán Córdova, C.I. 1720487766 autora del trabajo de graduación intitulado: “Comparación de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 en la semilla de lino (*Linum usitatissimum*) ecuatoriana y canadiense por cromatografía de gases”, previo a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito 03 de Septiembre del 2014

---

Srta. Jessica del Pilar Durán Córdova  
C.I. 1720487766