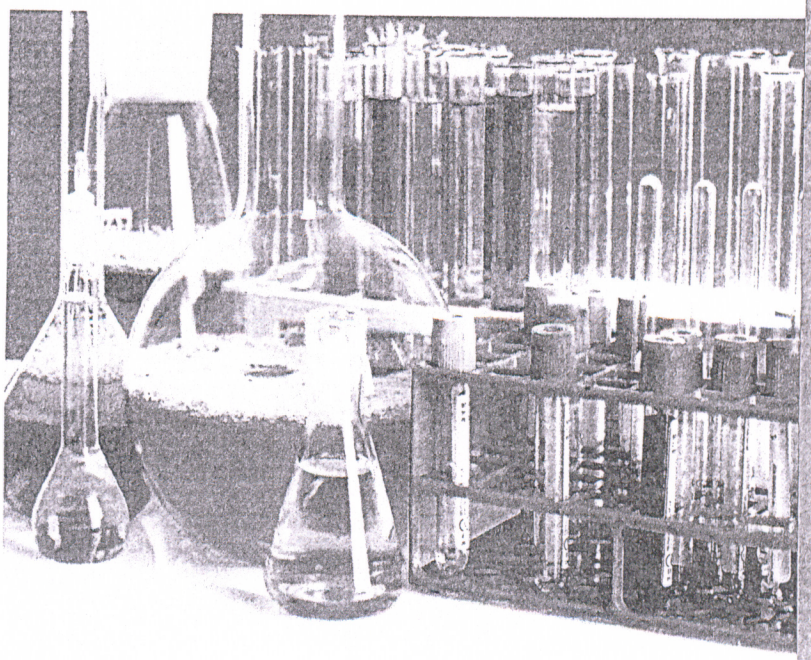
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

SERÉIS MIS TESTIGOS

3

infoANALÍTICA

BOLETIN ANUAL ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS



QUÍMICA ANALÍTICA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

Dr. Fernando Ponce León, S.J.
Rector
Dr. Carlos Acurio Velasco
Director General Académico
Máster César Eduardo Carrión
Director del Centro de Publicaciones
Dr. Hugo Navarrete Zambrano
Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Dra. Lorena Meneses Olmedo
Directora Escuela de Ciencias Químicas

Miembros del Comité Editorial de la Escuela de Ciencias Químicas
Mtr. Yolanda Jibaja (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Dra. Lorena Meneses Olmedo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Secretaria
Fátima Tasiguano Morales (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

infoANALÍTICA
Boletin anual de la Escuela de Ciencias Químicas

Autores
Valeria Coral (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Ramiro Gallegos (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Sebastián Cuesta (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Lorena Meneses (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Fernando Bravo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Pablo Pozo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Elga Narváez (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Cristina Mena (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Juan Francisco Almeida (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Jéssica Durán (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Pares evaluadores
Dra. Yolanda López Franco
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. CIAD (México)
Dra. Paulina Hidalgo Córdova
Departamento de Química, Universidad de Concepción (Chile)
Dr. Flavio Contreras-Torres
Instituto Tecnológico y de Estudio Superiores de Monterrey (México)
Dra. Elizabeth Pabón Gálvez
Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (Colombia)
Dr. Claudio Jiménez Águila
Departamento de Química Orgánica, Universidad de Concepción (Chile)

ISBN: 978-9978-77-249-2

Corrección de estilo y ortografía:
Alfonso Sánchez
Diagramación e impresón:
PPL Impresores
pplimpresores@gmail.com

Quito, noviembre de 2015

Centro de Publicaciones
Av. 12 de Octubre 1076 y Roca • Telfs.: (593-2)2991711

Contenido

Presentación 07

DETERMINACIÓN PROXIMAL DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES NUTRICIONALES DE HARINA DE MAÍZ, HARINA DE TRIGO INTEGRAL, AVENA, YUCA, ZANAHORIA AMARILLA, ZANAHORIA BLANCA Y CHOCHO
PROXIMAL DETERMINATION OF THE MAIN NUTRITIONAL COMPONENTS OF CORNMEAL, WHOLE WHEAT FLOUR, OAK, CASSAVA, YELLOW CARROT, WHITE CARROT AND ANDEAN LUPIN
Valeria Coral T., Ramiro Gallegos G. 09

Resumen 09
Introducción 11
Materiales y métodos 15
Resultados 16
Discusión 16
Conclusiones 21
Literatura citada 23

CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS EN LA RUTA SINTÉTICA DE IBUPROFENO
INFRARED SPECTROSCOPY CHARACTERIZATION OF THE INTERMEDIATE PRODUCTS IN IBUPROFEN SYNTHETIC PATH
Sebastián Cuesta H., Lorena Meneses O. 25

Resumen 25
Introducción 27
Materiales y métodos 29
Resultados 32
Discusión 35
Conclusiones 39
Literatura citada 39

DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN EMBUTIDOS Y MAYONESAS DE MAYOR CONSUMO EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES
DETERMINATION OF FATTY ACIDS PROFILE IN SAUSAGES AND MAYONNAISE OF HIGHEST CONSUMPTION IN THE METROPOLITAN DISTRICT OF QUITO BY GAS CHROMATOGRAPH
Fernando Bravo C. & Pablo Pozo P. 41

Resumen 41
Introducción 43
Materiales y métodos 44
Resultados 45
Discusión 47
Conclusiones 49
Literatura citada 51

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN
POR ESPECTROSCOPIA VISIBLE E INFRARROJA DEL COLORANTE DEL ACHIOTE
(*Bixa orellana*)
ANNATTO (*Bixa orellana*) COLORING ISOLATION AND
CHARACTERIZATION BY VISIBLE AND INFRARED SPECTROSCOPY
Elga Narváez V., Cristina Mena P. 53

Resumen 53
Introducción 55
Materiales y métodos 57
Resultados 58
Discusión 61
Conclusiones 63
Literatura citada 63

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN EXPERIMENTAL Y COMPUTACIONAL
DE EUGENOL EN ALBAHACA DE SAL (*Ocimum basilicum L.*)
Y ALBAHACA DE DULCE (*Ocimum americanum*)
ISOLATION AND EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL CHARACTERIZATION
OF EUGENOL IN SALT BASIL (*Ocimum basilicum* L.)
AND SWEET BASIL (*Ocimum americanum*)
Juan Francisco Almeida L., Lorena Meneses O. 65

Resumen 65
Introducción 67
Materiales y métodos 68
Resultados 70
Discusión 73
Conclusiones 74
Literatura citada 76

COMPARACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3, 6 Y 9 EN LA SEMILLA DE LINO
(*Linum usitatissimum L.*) ECUATORIANA Y CANADIENSE
POR CROMATOGRAFÍA DE GASES
COMPARISON OF FATTY ACIDS OMEGA 3, 6 AND 9
IN ECUADORIAN AND CANADIAN
Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) BY GAS CHROMATOGRAPHY
Pablo Pozo P., Jessica Durán C. 77

Resumen 77
Introducción 79
Materiales y métodos 81
Resultados 85
Discusión 89
Conclusiones 91
Literatura citada 93

CURIOSIDADES DE LA QUÍMICA 95

COMPARACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3, 6 Y 9 EN LA SEMILLA DE LINO (*Linum usitatissimum L.*) ECUATORIANA Y CANADIENSE POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

COMPARISON OF FATTY ACIDS OMEGA 3, 6 AND 9 IN ECUADORIAN AND CANADIAN Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) BY GAS CHROMATOGRAPHY

Pablo Pozo P.[1] & Jessica Durán C.[1]

Palabras claves: Semilla de lino, omega 3, omega 6, omega 9, ésteres metílicos, cromatografía de gases.

Keywords: linseed, omega 3, omega 6, omega 9, methyl esters, gas chromatography.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la cuantificación de los ácidos grasos: omega 3: ácido alfa linolénico (AAL), omega 6: ácido linoléico (AL), omega 9: ácido oleico (AO) en semilla de lino (*Linum usitatissimum L.*) ecuatoriana y canadiense, por cromatografía de gases y la comparación de dichos ácidos presentes en los dos tipos de semilla de lino mediante la aplicación de la prueba

[1] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Escuela de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (pepozo@puce.edu.ec; duranjessicap@gmail.com)

t de Student. Para cumplir con este propósito se realizó un muestreo aleatorio y por cada tipo de semilla de lino 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 linaza canadiense un porcentaje promedio de grasa de 40% y en la linaza ecuatoriana 34%. Posteriormente se procedió a esterificar, diluir y analizar los ácidos grasos presentes por cromatografía de gases con detector FID provisto de un inyector automático y columna Capilar TG – Polar. De este análisis se obtuvo que la linaza canadiense posee: 23,3 % de Omega 3 (AAL), 5,6 % de Omega 6 (AL) y 3,8 % de Omega 9 (AO) y la linaza ecuatoriana tiene: 22,8 % de Omega 3 (AAL), 6,3 % de Omega 6 (AL) y 3,7 % de Omega 9 (AO). Tras realizar la prueba t de Student, se determinó que no existen diferencias significativas entre los valores de omega 3 (AAL) y 9 (AO) de las dos variedades de linazas y si existen diferencias significativas entre los valores de omega 6 (AL).

ABSTRACT

This study's main objective was the quantification of fatty acids: omega 3: alpha linolenic acid (ALA), omega 6: linoleic acid (LA), omega 9: oleic acid (OA) in Ecuadorian and Canadian linseed (Linum usitatissimum L .) by gas chromatography and comparison of these acids in the two types of flaxseed by applying Student's t test. To fulfill this purpose a random sampling was performed. For each type of linseed 12 samples were taken, of which the total fat extracted using a Soxhlet apparatus, as a result of this analysis was obtained in Canadian flaxseed average percentage of 40 % fat and 34 % flaxseed Ecuador. The fatty acid present in the samples were esterified, diluted and analyze by gas chromatography - FID detector equipped with an autosampler and capillar column TG – Polar. As a result of this analysis it was determined that Canadian flaxseed has 53 % of Omega 3 (ALA), 16 % of Omega 6 (AL) and 19 % Omega 9 (AO) and the Ecuadorian flaxseed has 53 % of Omega 3 (ALA), 17 % of Omega 6 (AL) and 20 % Omega 9 (AO). After performing the t-Student test, it was finally determined that there are no significant differences between the values of Omega 3 (ALA) and 9 (AO) of the two varieties of linseeds and there are significant differences between the values of omega-6 (AL).

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos omega 3: ácido alfa linolénico (AAL), omega 6: ácido linoléico (AL), omega 9: ácido oleico (AO) son compuestos orgánicos 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, y ofrecen potenciales beneficios para la mantención de la salud y prevención de algunas enfermedades (García, 2012., Herrera et al., 2006).

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.

La semilla de lino (*Linum usitatissimum L.*) pertenece a 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 como se observa en la Figura 1. (Castillo & Sentis,1996).

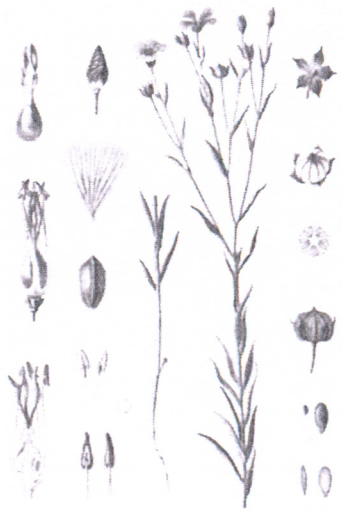


Figura 1: Planta del lino (Gallegos,2008)

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 & Cunanne, 2003). 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, grasa 34,0 – 47,8% y una elevada cantidad de ácidos grasos AL (12,7 – 22,4%), AO (20,1–27,7%) (McKevith, 2005) y AAL (53,3–57,3 hasta 85%) (Chen, 2001). Estos componentes en especial, han despertado interés en el consumidor, y 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).

Canadá es uno de los principales países productores y exportadores de la semilla de lino 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 Canadá, 2013). En el Ecuador, se cultiva la semilla de lino en las provincias de la sierra, especialmente Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo y Bolívar y se comercializa en centros naturistas, supermercados y mercados (Ecuador Agricultura, 2013). Actualmente no se cuenta con 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 estudió y comparó la cantidad de ácidos grasos AAL, AL y AO de la semilla de lino nacional con la semilla de lino canadiense.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Frascos plásticos, viales ámbar con rosca Agilent Technologies 2 mL (5182-0716), balones aforados de 1 mL, 5 mL, 10 mL, 25 mL, vaso de precipitación de 10 mL, parafilm, pipeteador automático Accumax 100 – 1000 µL, espátula para microcantidades, papel filtro cualitativo, probeta de 100 mL, gradilla para tubos de ensayo, 24 tubos de ensayo de 10 mL con tapa rosca, pipeta volumétrica de 2 mL, pipeteador.

Reactivos

Estándar SupelcoTM 37 component FAME Mix de 10 mg/mL en CH_2Cl_2; n-hexano (grado HPLC), KOH sólido; metanol (Grado HPLC).

Equipos

Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific (GC Focus-FID) / modelo: GC Focus, serie 10901019 y un automuestreador serie 300, desecador de vidrio Simax, estufa con regulador de temperatura Fanem, equipo de vidrio Soxhlet de extracción de grasa Metrexlab (Soxmetrex 6P), plancha de calentamiento Termolyne – Cimarec, centrifugadora Clay Adams, balanza analítica Shimadzu, vortrex Mixer Gemmy Industrial, molino S/MA.

Métodos

AOAC Official Method 2003.06, 2012.
El Reglamento (CE) nº 2568/91, 2002.
IUPAC Method 2.301, 1992.
ISO 5509: 2000, 2001.

Procedimiento experimental

El sistema cromatográfico con el cual se trabajó se resume en la Tabla 1.

Para la determinación y cuantificación de los ácidos grasos de las semillas de lino en el cromatógrafo de gases-FID, en primera instancia se desarrolló las condiciones cromatográficas óptimas para la cuantificación, las cuales se detallan en la Tabla 2.

Se definieron los siguientes tiempos de retención de los analitos: omega 3 (AAL): 43,075 min. omega 6 (AL): 40,435 min y omega 9 (AO): 38,105 min.

Tabla 1. Sistema Cromatográfico

Detector		FID Ionización de llama
Muestreador		Triplus sampler 300
Liner		Split
Gas portador		Helio puro (Grado 5)
Columna	Tipo	Capilar TG – Polar Thermo Scientific 1009842
	Material	Sílice fundida reforzada con recubrimiento protector de poliimida
	Longitud	105 m
	Diámetro	0,25 mm
	Espesor	0,2 µm
	Fase Estacionaria	90% Cianopropilfenil 10% Fenilcianopropil Polisiloxano

Posteriormente se prepararon curvas de calibración para lo cual se elaboraron soluciones estándar de 0.1; 0.3; 0.6; 0.9; 1.2 mg/mL a partir del estándar SupelcoTM 37 Component FAME. Las soluciones se inyectaron por duplicado durante tres días en el cromatógrafo de gases bajo las condiciones cromatográficas detalladas en la Tabla 2. Se obtuvieron los promedios de las áreas y relacionándolos con la señal de lectura del equipo, se obtuvo las curvas de calibración.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas óptimas para determinación de ácidos grasos omega

Volumen de inyección		2.0 µL
Presión de gases		<100 psi
Tiempo total de corrida de la muestra		62 min
Split		50:1
Temperatura del inyector		260°C
Temperatura del Horno	Variación	2.4 °C/ min
	Inicial / Tiempo	140°C / 5.00 min
	Rampa / Tiempo	245 °C / 13.25 min
	Final máxima	260 °C
Temperatura del detector		260°C

Para asegurar el método y garantizar confiabilidad en los resultados del estudio, se validaron las curvas de calibración determinando los siguientes parámetros: linealidad mediante el cálculo de coeficientes de correlación (R2); de las curvas de calibración, sensibilidad mediante el cálculo de la pendiente (m); de las curvas de calibración, límite de detección y cuantificación mediante la medición de la desviación estándar de un blanco; precisión: repetibilidad / reproducibilidad, mediante el cálculo de coeficientes de variación (%CV) de los datos de áreas de las diferentes concentraciones de estándar y exactitud mediante el cálculo de porcentajes de recuperación de soluciones con concentración conocida en muestras fortificadas. Estos parámetros se analizaron según la Norma INEN ISO/IEC 17025.

Tratamiento de la muestra

El muestreo utilizado fue aleatorio simple. Consistió en tomar doce

muestras de linaza ecuatoriana y doce muestras de linaza canadiense en diferentes establecimientos comerciales de Quito. En total se adquirieron 24 muestras de linaza entre 100 a 500 gramos.

Análisis de la muestra

Las muestras adquiridas se molieron por separado en un Molino S/MA, luego se extrajo la grasa por el método Soxhlet siguiendo el método AOAC 2003.06, luego para derivatizar la grasa de las muestras y mediante la reacción de transesterificación, formar esteres de ácidos grasos se tomó como referencia El Reglamento (CE) nº 2568/91, IUPAC Method 2.301, ISO 5509: 2000, para el efecto, se pesó 100 mg de la grasa de la muestra de linaza extraída por Soxhlet en tubos de ensayo en los cuales se pipeteó 2 mL de hexano grado HPLC, se taparon los tubos y se agitó por 30 segundos, una vez transcurrido el tiempo, se añadieron 200 µL de la solución de hidróxido de potasio metanólico 2 N con un pipeteador automático, 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 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 hasta formar 2 fases: la acuosa que contenía glicerina y la orgánica que contenía los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Para cuantificar ácido alfa linolénico (AAL) se elaboró una dilución de 1:1000 para lo cual se tomaron 25 µL de la fase orgánica con esteres metilicos y se aforó con n-hexano HPLC en un balón de 25 mL. Para cuantificar ácido linoléico (AL) y oléico (AO) se realizó una dilución de 1:400, para lo cual se tomaron 25 µL de la fase orgánica y se aforó con n-hexano HPLC en un balón de 10 mL. Finalmente se inyectaron las muestras de esteres metílicos de ácidos grasos en el cromatógrafo de gases y la cuantificación de los analitos se obtuvo directamente del equipo por interpolación en las curvas de calibración. El resultado de ácidos grasos se obtuvo en porcentaje de ácido graso en % real de grasa.

Tratamiento estadístico de datos

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. Una vez establecido que prueba t se aplica se procedió a calcular y analizar la t calculada y t teórica para determinar si existen o no diferencias significativas entre los valores promedio de ácidos grasos obtenidos de dos tipos de semilla de lino.

RESULTADOS

Para asegurar la especie (*Linum usitatissimum L.*) y procedencia de las semillas (Ecuador/ Canadá): se hizo llenar y firmar un certificado de origen a los diferentes vendedores de la semilla ecuatoriana y canadiense, se adquirió muestras de semillas de lino canadiense etiquetadas con información de la especie y origen, se obtuvo un certificado del Herbario QCA de la PUCE que indica que en el Ecuador se cultiva únicamente la planta de lino de especie: (*Linum usitatissimum L.*), se realizó un análisis taxonómico de una planta de lino ecuatoriana para verificar su especie y se realizó un examen macroscópico de la semilla ecuatoriana y la canadiense, de este se obtuvo que la linaza canadiense posee TAMAÑO: Aproximado 5mm, FORMA: Almendrada, COLOR: Café oscuro. Ver Figura 2.



Figura 2: Semilla de lino (Linum usitatissimum L.) canadiense café

La linaza ecuatoriana posee TAMAÑO: Más pequeña que la canadiense, FORMA: Aplanada y alargada, COLOR: Café cobrizo.

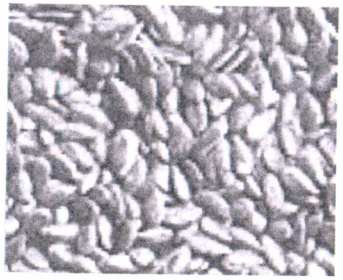


Figura 3: Semilla de lino (Linum usitatissimum L.) ecuatoriana

En la Tabla 3 se presentan los resultados de los parámetros de validación del método para determinar ácidos grasos por cromatografía de gases.

El porcentaje promedio de grasa obtenido de la semilla de lino canadiense fue 39 %, y el porcentaje promedio de grasa obtenido de la semilla de lino ecuatoriana fue 33 %.

En la Figura 4 se presentan un cromatograma modelo donde se visualiza la existencia de los ácidos omega 3 (AAL), 6 (AL) y 9 (AO) en la semilla de lino canadiense y en la Figura 5 se presenta el reporte de ácidos grasos, donde se cuantifica el ácido graso omega 6 (AL) Y 9 (AO) de la semilla de lino canadiense.

Similares cromatogramas y reportes se obtuvieron para la semilla de lino ecuatoriana.

A continuación en la Tabla 4 se encuentran los porcentajes de ácidos grasos en 100% de grasa y en % real de grasa tanto de la semilla de lino ecuatoriana como de la canadiense. Al realizar la prueba estadística F de Fisher se obtiene que las varianzas no poseen diferencias significativas por lo que para determinar si existen o no diferencias significativas entre los resultados promedios de los porcentajes de ácidos grasos de la semilla de lino ecuatoriana y canadiense, se aplica la prueba estadística t de Student para muestras independientes de grupos con varianzas que no poseen diferencias significativas. Los resultados se expresan en la Tabla 5.

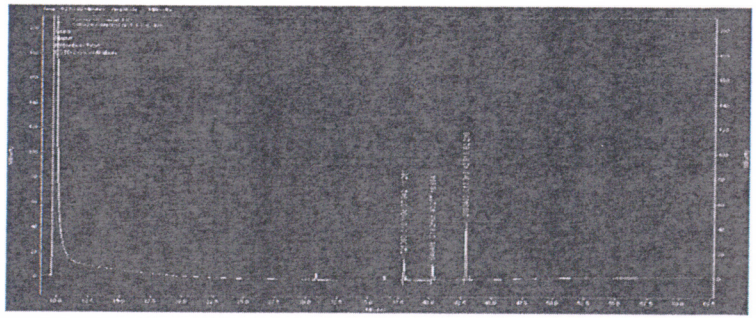


Figura 4. Cromatograma de muestra 1 de semilla de lino canadiense con dilución 1:400 en n-hexano

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

Parámetros de Validación		Ácidos Grasos			CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
		AAL ω-3	AL ω-6	AO ω-9	
Coeficientes de correlación (R^2)		0,9962	0,9964	0,9966	>0,995
Pendiente (m)		$1x10^6$	$1x10^6$	$3x10^6$	Altos
Límite de Detección (mg/mL)		0,00395	0,00406	0,00405	Bajos
Límite de Cuantificación(mg/mL)		0,01317	0,01354	0,01350	
Repetibilidad (%CV)	0,1 mg/mL	0,72	2,30	0,24	<10%
	0,3 mg/mL	1,78	1,98	2,14	
	0,6 mg/mL	1,75	1,61	1,37	
	0,9 mg/mL	1,79	2,44	1,94	
	1,2 mg/mL	3,73	2,32	2,32	
Reproducibilidad (%CV)	0,1 mg/mL	2,43	3,40	1,34	
	0,3 mg/mL	0,72	1,31	1,71	
	0,6 mg/mL	0,75	0,75	0,52	
	0,9 mg/mL	3,50	3,13	3,09	
	1,2 mg/mL	3,14	2,77	2,61	
Exactitud	Recuperación Nivel bajo 0,2mg/mL	82%	90%	81%	80 – 110%
	Recuperación Nivel medio 0,4mg/mL	89%	97%	98%	
	Recuperación Nivel alto 0,6mg/mL	92%	93%	96%	

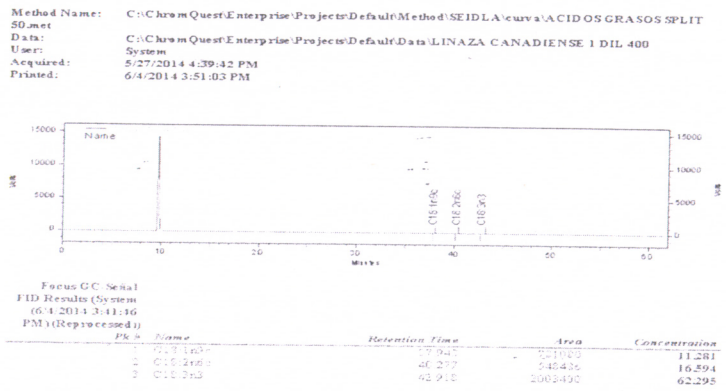


Figura 5. Reporte de ácidos grasos de muestra 1 de semilla de lino canadiense con dilución 1:400 en n-hexano

Tabla 4. Porcentaje de ácidos grasos en 100% y porcentaje real de grasa de la semilla de lino nacional y extranjera

	Semilla lino Canadá	Semilla lino Ecuador	Semilla lino Canadá	Semilla lino Ecuador
Grasa	100	100	38,79	33,15
Ácido Alfa Linolénico ω-3	60,292	68,396	23,343	22,777
Ácido Linoléico ω-6	14,473	18,878	5,609	6,270
Ácido Oléico ω-9	9,847	11,149	3,817	3,701

Tabla 5. Resultados de la prueba t - Student

Ácidos Grasos		Promedio (%)	t 0,05 TABULADA	t CALCULADA	Resultado
AAL (ω-3)	Canadá Ecuador	23,343 22,777	1,7959	0,393	Ho ACEPTADA
AL (ω-6	Canadá Ecuador	5,609 6,270	1,7959	2,333	Ho RECHAZADA
AO (ω-9)	Canadá Ecuador	3,817 3,701	1,7959	0,674	Ho ACEPTADA

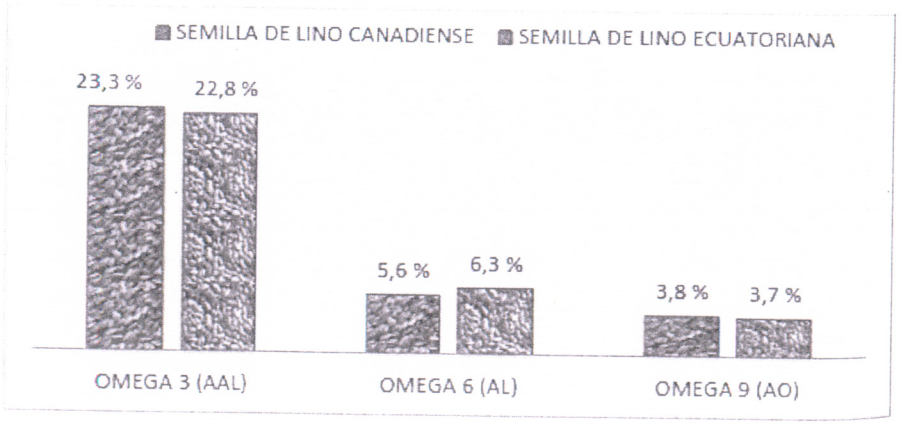
DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según los resultados de la Tabla 3 los porcentajes de variación calculados (%C) fueron menores al 10 %, lo que indica que el método tiene una buena repetibilidad y reproducibilidad y por tanto una buena precisión. Los coeficientes de correlación obtenidos fueron menores al 0,995, lo que demuestra que el método tiene una buena linealidad en el rango de trabajo 0,1–1,2 mg/mL. Los límites de detección y cuantificación bajos indican que el método tiene la capacidad de detectar y cuantificar ácidos grasos a bajas concentraciones. Las pendientes altas obtenidas demuestran que el método permite detectar los mínimos cambios de concentración del analito en las muestras. Los porcentajes de recuperación (%R) calculados entraron en el rango de aceptabilidad 90-110 %, lo que indica que el método posee una buena exactitud en el rango de trabajo.

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 34,0–47,8 % (McKevith, 2005), 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 (McKevith, 2005). De acuerdo a la Tabla 5; en 100% de grasa, la semilla de lino canadiense

posee en promedio 60 % de AAL y la semilla de lino ecuatoriana 68 %. Ambos resultados se encuentran dentro del rango bibliográfico 53,5–85 % (McKevith, 2005; Chen, 2001). Con respecto al AL 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 de referencia 12,7–27,7 % (McKevith, 2005). En 100 % de grasa en la semilla de lino canadiense se obtuvo en promedio 10 % de AO y en la semilla de lino nacional 11 %. Ambos resultados no se encuentran dentro del rango bibliográfico 20,1–27,7 % (McKevith, 2005), esto se debe a que los valores de ácidos 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 cantidad de componentes presentes en la semilla (Flax Council of Canada, 2013; Gallegos, 2008). En la semilla de lino ecuatoriana y canadiense se obtuvieron los siguientes porcentajes promedios (en porcentaje real de grasa) expresados en la Figura 6.

Figura 6. Comparación en barras de porcentajes de ácidos grasos omegas de los dos tipos de semillas de lino



En la Figura 6 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 (Prueba t) para llegar a una conclusión sustentada.

Según los resultados de la prueba t – Student, expresados en la Tabla 6, 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 tCALCULADA 2,333 mayor a la t TEORICA 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 CALCULADA 0,393 menor a la t TEORICA 1,7959, la misma situación se determinó con el ácido oléico omega 9 que posee una t CALCULADA 0,674 menor a la t TEORICA 1,7959.

CONCLUSIONES

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); 23,3 %, omega 6 (AL); 5,6 % y omega 9 (AO); 3,8 % presentes en la grasa total de la semilla de lino (*Linum usitatissimum L.*) canadiense que corresponde al 39 % de la muestra.

Se pone de manifiesto que la semilla de lino (*Linum usitatissimum L.*) ecuatoriana es también de alta calidad ya que contiene; 22,8 % omega 3 (AAL), 6,3 % omega 6 (AL) y 3,7 % omega 9 (AO) presentes en la grasa total que corresponde al 33 % de la muestra.

Los valores obtenidos de omega 3 (AAL) y 9 (AO) de la semilla de lino ecuatoriana (*Linum usitatissimum L.*) son estadísticamente iguales a los valores obtenidos de estos mismos ácidos grasos presentes en la semilla de lino (*Linum usitatissimum L.*) 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 L.*) 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.

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 y almacenamiento de la semilla; análisis de humedad y ceniza para determinar la materia seca y el contenido mineral total; análisis de fibra dietética 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.

LITERATURA CITADA

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

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

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

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

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

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

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

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

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, 13 de abril del 2014.

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

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

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

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

Pszczola, D. (2002), *Ingredient developments for frozen desserts. Food Technal*, AOCS press, Illinois. REGLAMENTO (CE) nº 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.

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