



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EXTRACCIÓN DE ACEITE DE SEMILLA DE CHÍA CON DIÓXIDO DE CARBONO  
SUPERCRÍTICO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**P R E S E N T A:**

**ANDREA TONANTZI VEGA RAMÍREZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Profesora: Ma. Antonia Dosal Gómez  
Vocal: Profesora: María de los Ángeles Valdivia López  
Secretario: Profesor: Miquel Gimeno Seco  
1er. Suplente: Profesor: Liliana Saldivar Osorio  
2do. Suplente: Profesor: Hermilo Leal Lara

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio 314 edificio E, Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología.

Asesor del tema: Dr. Miquel Gimeno Seco

Sustentante: Andrea Tonantzi Vega Ramírez

## **Dedicatorias**

A mis padres por darme su cariño y estar conmigo siempre, gracias por los valores que me fomentaron.

A mis hermanas por todo lo que hemos vivido juntas, gracias.

A Fer por todo el amor, comprensión y buenos momentos, además de su apoyo durante toda la carrera, gracias amor.

A mis amigos por todos los momentos compartidos, TTKE.

## **Agradecimientos**

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por el apoyo financiero brindado al proyecto IN-200109 con el título *Determinación y cuantificación de ácidos grasos por cromatografía de gases a partir de muestras de extractos de semilla de chía con dióxido de carbono supercrítico*.

Al Dr. Miquel Gimeno Seco por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Al Dr. Alberto Tecante Coronel por apoyar este proyecto desde sus inicios.

A Vanesa Yanet Ixtaina por su colaboración en este proyecto.

A Lulú Osnaya, gracias.

A todos mis profesores por contribuir en mi preparación profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química a quien debo mi formación profesional.

## Índice

1. Resumen .....	1
2. Introducción .....	3
3. Objetivos .....	5
4. Antecedentes .....	6
4.1 La chía .....	6
4.1.1 Historia .....	7
4.1.2 Características .....	8
4.1.2.1 Contenido de ácidos grasos .....	8
4.1.3 Ácidos grasos .....	11
4.1.3.1 Ácidos grasos saturados .....	11
4.1.3.2 Ácidos grasos insaturados .....	12
4.1.3.3 Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) .....	12
4.1.4 Degradación de lípidos .....	14
4.1.4.1 Oxidación de lípidos .....	14
4.1.4.2 Autooxidación .....	15
4.1.5 Otras características de la semilla de chía .....	16
4.2 Extracción con scCO <sub>2</sub> .....	17
4.2.1 SF .....	17
4.2.2 Características de los fluidos supercríticos .....	19
4.2.3 Extracción con SF .....	19
4.2.4 Aplicación en la industria alimentaria .....	21
4.3 Metodología de superficie de respuesta .....	22
4.3.1 Polinomio de segundo orden .....	23
4.3.1.1 Diseño factorial 2 <sup>k</sup> .....	23
4.3.1.2 Diseño central compuesto .....	24
4.4 Reología .....	24
4.4.1 Tipos de fluidos .....	25
4.4.2 Esfuerzo cortante ( <i>shear stress</i> ) y velocidad de corte ( <i>shear rate</i> ) .....	26
4.4.3 Fluidos no Newtonianos .....	26

4.4.4	Modelo de Arrhenius .....	28
4.4.5	Viscosímetro de placas paralelas .....	29
4.5.	Cromatografía de gases .....	29
4.5.1	Cromatograma .....	30
4.5.2	Análisis de la muestra.....	30
4.5.3	Columna cromatográfica .....	30
4.5.4	Programa de temperatura .....	31
4.5.5	Eficiencia de la separación .....	31
5.	Diagrama general del experimento .....	32
6.	Materiales y métodos .....	33
6.1	Preparación de la muestra .....	33
6.1.1	Homogeneización .....	33
6.1.2	Determinación de humedad .....	33
6.1.3	Obtención de la harina de chía .....	34
6.2	Determinación de contenido de aceite por el método Soxhlet .....	34
6.3	Extracción con scCO <sub>2</sub> .....	34
6.4	Optimización del diseño experimental de la extracción con scCO <sub>2</sub> .....	35
6.5	Caracterización del aceite extraído .....	37
6.5.1	Propiedades termoreológicas .....	37
6.5.2	Acidez titulable .....	38
6.5.3	Índice de peróxidos .....	39
6.5.4	Índice de yodo .....	39
6.5.5	Índice de saponificación .....	40
6.6	Cuantificación de ácidos grasos .....	40
6.6.1	Derivatización de la muestra .....	40
6.6.2	Determinación del perfil de ácidos grasos .....	41
6.7	Cinética de extracción .....	42
6.8	Muestra sin mucílago .....	42
6.8.1	Homogeneización .....	42
6.8.2	Hidratación .....	42

<b>6.8.3</b>	Congelación .....	42
<b>6.8.4</b>	Liofilización .....	42
<b>6.8.5</b>	Eliminación del mucílago .....	42
<b>6.8.6</b>	Molienda .....	43
<b>6.8.7</b>	Extracción con scCO <sub>2</sub> .....	43
<b>6.8.8</b>	Cuantificación .....	43
<b>6.8.9</b>	Derivatización de la muestra .....	43
<b>6.8.10</b>	Determinación del perfil de ácidos grasos .....	43
<b>7.</b>	Resultados y discusión .....	44
<b>7.1</b>	Determinación de humedad y contenido de aceite por el método Soxhlet .....	44
<b>7.2</b>	Extracción del aceite de chía con scCO <sub>2</sub> .....	45
<b>7.3</b>	Optimización del diseño experimental .....	47
<b>7.3.1</b>	Superficie de respuesta .....	50
<b>7.3.1.1</b>	Efecto de la presión y la temperatura sobre el porcentaje de rendimiento del aceite de chía... ..	50
<b>7.3.1.2</b>	Efecto de la presión y el tiempo sobre el porcentaje de rendimiento del aceite de chía.....	51
<b>7.3.1.3</b>	Efecto del tiempo y temperatura sobre el porcentaje de rendimiento de extracción del aceite de chía..	52
<b>7.4</b>	Cinética de extracción .....	55
<b>7.5</b>	Caracterización del aceite extraído .....	56
<b>7.5.1</b>	Propiedades termo-reológicas .....	56
<b>7.5.2</b>	Calidad del aceite .....	63
<b>7.5.2.1</b>	Acidez titulable e índice de peróxidos .....	63
<b>7.5.2.2</b>	Índice de yodo e índice de saponificación .....	63
<b>7.6</b>	Perfil de ácidos grasos .....	66
<b>8.</b>	Extracción scCO <sub>2</sub> de la semilla de chía sin mucílago .....	71
<b>8.1</b>	Mucílago .....	71



<b>8.2</b>	Contenido de aceite .....	71
<b>8.3</b>	Cinética de extracción scCO <sub>2</sub> con la semilla sin mucílago .....	72
<b>8.4</b>	Perfil de ácidos grasos de los extractos de aceite de la semilla sin mucílago .....	73
<b>9.</b>	Conclusiones .....	75
<b>10.</b>	Bibliografía .....	76
<b>11.</b>	Anexo 1. Estadística .....	83
<b>12.</b>	Anexo 2. Gráficos obtenidos en el estudio reológico .....	88

## 1. Resumen

La obtención de los aceites vegetales se realiza industrialmente por la extracción con disolventes orgánicos que posteriormente son removidos por evaporación.

En este trabajo se propuso un método alternativo de extracción con dióxido de carbono en estado supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) para la obtención de aceite de semilla de chía (*Salvia hispánica L.*). Al utilizarse CO<sub>2</sub> como disolvente se suprime la operación de separación, ya que se obtiene íntegramente el aceite y el CO<sub>2</sub> se elimina completamente a presión atmosférica.

La utilización de la semilla de chía como matriz alimentaria permitió obtener resultados cuantitativos debido a su alto contenido de aceite (32%) (Vázquez, et. al., 2009).

Para la optimización del proceso de extracción de aceite de chía con dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) se estudió el efecto de tres variables sobre el rendimiento y características del extracto; temperatura (°C), presión (bar) y tiempo (min) de extracción.

Las condiciones óptimas de extracción se determinaron estadísticamente utilizando un modelo de superficie de respuesta central compuesto el cual permitió establecer que a 80°C, 450 bar y 240 minutos se obtiene el mayor rendimiento, 26.3667%<sub>b.s.</sub> de aceite de chía.

De acuerdo a la ecuación que describe la superficie de respuesta, el tiempo (min) de extracción es la variable que tiene mayor influencia sobre el rendimiento, seguido de la presión (bar). La temperatura no influye en el rendimiento con un 95% de confianza.

La determinación del perfil de ácidos grasos del aceite de chía extraído con dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) mediante cromatografía de gases, permitió conocer que los ácidos grasos contenidos mayoritariamente en el aceite de chía son los ácidos linoléico y linolénico, 20.9% y 62.3% respectivamente. Además de los ácidos grasos ya mencionados, el aceite de chía contiene el 4.1%

de ácido oléico, 1.9% de ácido esteárico y 11.5% de ácido palmítico. Los porcentajes que se mencionaron anteriormente se calcularon tomando como 100% el total de ácidos grasos del perfil cromatográfico.

El estudio reológico del aceite de chía indicó que éste presenta un comportamiento Newtoniano, es decir que la viscosidad no cambia con el tiempo manteniéndolo a una temperatura constante.

## 2. Introducción

La chía (*Salvia hispanica L.*) es una planta anual de verano originaria del suroeste de México y Guatemala. Sus semillas son oleaginosas y contienen de 32 a 39% (Ayerza, 2001) de aceite, y es ésta semilla el alimento de origen vegetal que proporciona el mayor porcentaje de ácido  $\alpha$ -linolénico (60 a 63%) (Ayerza, 2001).

Al utilizar la semilla de chía como fuente de ácidos grasos omega-3 se reduce la depredación de las fuentes naturales comunes como el pescado y se suprime la preocupación por la acumulación de toxinas como la dioxina y el mercurio presente en el pescado.

En la industria de los alimentos se ha aplicado con éxito la extracción con fluido supercrítico y el CO<sub>2</sub> es más empleado porque debido a su baja temperatura crítica (Tc) (31.1°C) resulta ideal para extraer compuestos termolábiles. Entre éstas destaca el proceso de descafeinización del grano de café verde.

La optimización de procesos permite determinar las mejores condiciones a las que se consigue el objetivo de éste, para lo cual se ha utilizado ampliamente el diseño experimental de superficie de respuesta (MSR) el cual se compone de un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que la respuesta que nos interesa estudiar está influida por diversas variables. En un estudio reciente se optimizó el proceso de extracción con dióxido de carbono supercrítico del aceite de semilla de granada, en donde se empleó el diseño de superficie de respuesta para tal fin (Liu, et. al., 2009).

La reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia. En el área de alimentos se utiliza en la ingeniería de equipos como bombas, mezcladores etc. Se utiliza además en la determinación de funcionalidad de ingredientes, en control de calidad y en evaluaciones sensoriales.

Las propiedades reológicas de los aceites dependen de diversos factores como la temperatura, la velocidad de corte y propiedades químicas. En el 2005 Wan, N. y cols. estudiaron el comportamiento reológico de los aceites de palma, coco,

canola, maíz y girasol los cuales presentaron un comportamiento pseudoplástico, es decir que su viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizalla, a una temperatura constante.

### **3. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Optimizar las condiciones del proceso de extracción de aceite de semilla de chía con dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>).

#### **Objetivos particulares**

Conocer el efecto de los métodos de extracción utilizados sobre el rendimiento del aceite obtenido.

Saber el perfil de ácidos grasos del aceite de chía y la influencia que tienen las condiciones de extracción sobre éste.

Observar el comportamiento reológico del aceite extraído.

Evaluar si existe interferencia del mucílago de la semilla de chía en la extracción con el fluido supercrítico y Soxhlet hexano.

## 4. Antecedentes

### 4.1 La chía

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una planta anual de verano originaria del suroeste de México y Guatemala. Es una planta de la familia *Labiatae*. De acuerdo al programa de manejo denominado: Reserva de la Biósfera Sierra Gorda México esta planta no cuenta con ningún estatus, es decir, no está en peligro de extinción, no está amenazada, no es rara y no está sujeta a protección especial (<http://www.conanp.gob.mx>).

En la actualidad la chía se cultiva en la zona de “Los Altos” en el estado de Jalisco, en México se siembran 450 hectáreas por año con una producción de 6.3 hectáreas (Ayerza, 1995).



**Figura 1.** Planta de *Salvia hispanica* L. ([www.orgonoproducts.com](http://www.orgonoproducts.com))

En 1991 se inició un programa de investigación y desarrollo formado por un grupo de productores, entidades comerciales y personal técnico y científico de Argentina, Bolivia, Colombia, Perú y los Estados Unidos; este programa se denominó Northwestern Argentina Regional Project. Los objetivos de este programa son proveer a los agricultores cultivos alternativos, mejorar la salud humana reintroduciendo a la chía en la alimentación diaria por las propiedades de la semilla.

La harina de chía es considerada suplemento dietético por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA); además, completa las exigentes

regulaciones de contenido de nutrientes alimenticios establecidas por esta organización para ser un “alimento saludable” (*U.S. Food and Drug Administration, 1999*) ([www.eatchia.com](http://www.eatchia.com)).

#### **4.1.1 Historia**

En la época de los Aztecas la chía formaba parte de los alimentos base en las civilizaciones de América Central, después del maíz y el frijol y antes del amaranto. Esta semilla se utilizaba además como tributo y ofrenda a los dioses; durante el imperio Azteca se recibían de 5 000 a 15 000 toneladas de semilla como tributo de los pueblos conquistados. Al utilizarse con fines religiosos y por su incapacidad para desarrollar en el clima europeo no se propagó su cultivo, inclusive se olvidó ([www.eatchia.com](http://www.eatchia.com)).

En el Códice Florentino, escrito de 1548 a 1585 por Fray Bernardino de Sahagún y titulado *Historia general de las cosas de la Nueva España*, se presenta de manera detallada el modo en que los Aztecas convivían con la chía.

La utilización de la semilla se describe como alimento mezclado con otro tipo de cultivos, como bebida al mezclarla con agua, como harina, como base en medicinas e incluso como base para pinturas corporales debido a la naturaleza de su aceite. En la alimentación se consumía de diferentes formas, molido para lo cual primero tostaban la semilla, esta harina se denominaba Chianpinolli, en forma de tortillas al combinarlo con maíz, en tamales y bebidas (Chiantoles) y otra denominada chía fresca la cual es chía con agua de limón y se consume en la actualidad (Ghill, 2003).

El avance en la agricultura al utilizar chinampas les permitió cultivar la semilla, esto lo hacían tejiendo corteza de árboles en forma de alfombras las cuales colocaban en lagos, cubrían éstas con tierra y cultivaban amaranto, chía, frijol y maíz.



#### 4.1.2 Características

Las semillas de chía (**figura 2**) son ovals de dos milímetros de largo por uno y medio de ancho, de aspecto son lisas, brillantes, de color oscuro con manchas irregulares de color rojizo oscuro (Flores, 1938).



**Figura 2.** Semillas de chia (*Salvia hispanica L.*) ([www.alamaula.com](http://www.alamaula.com))

##### 4.1.2.1 Contenido de ácidos grasos

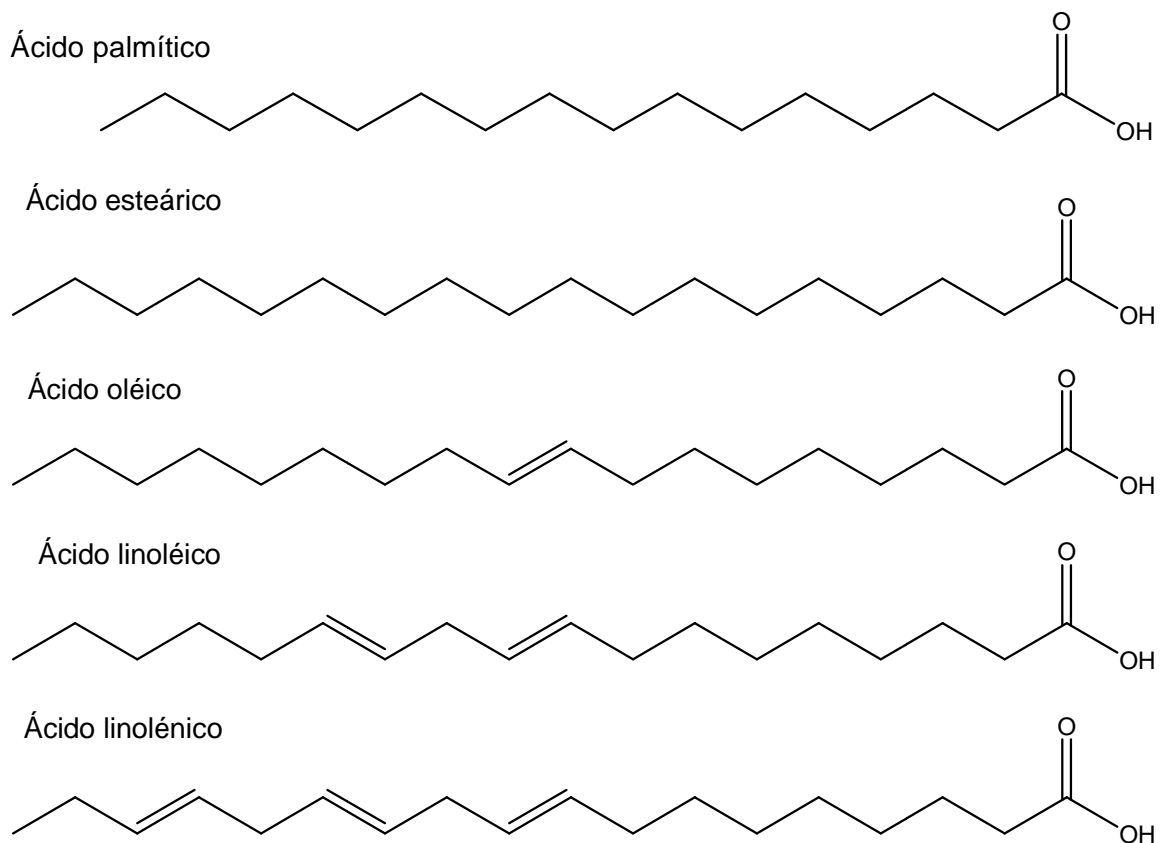
En diversos estudios publicados se informa que el contenido de aceite en las semillas de chía, el cual va de 32-39% (Ayerza, 2001) proporciona el mayor porcentaje conocido de ácido  $\alpha$ -linolénico extraído de una fuente natural ya que representa del 60 a 63% en el perfil de ácidos grasos del aceite (Ayerza, 2001).

En los últimos años se ha estudiado la composición del aceite de semilla de chía, en la **Tabla 1** se muestran los datos publicados en algunos trabajos.

**Tabla 1. Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de chía encontrados en la literatura.**

Ácido graso	%						
	Ayerza (1995)	Coates y Ayerza (1996)	Coates y Ayerza, 1998	Heuer (2002)	Ayerza y Coates (2004)	Chicco, 2009	Peiretti, 2009
<b>Hexadecanoico (16:0)</b>	6.2-7.1	6.4-7.9	7	7.6-8.7	6.6-7.7	6.6	7.1
<b>Octadecanoico (18:0)</b>	3.1-3.7	2.4-3.2	3	2.6-3.0	2.7-3.6	2.8	3.3
<b>Octadeca-9-enoico (18:1 n-9)</b>	7.3-8.2	6.0-6.6	6.5-7	6.1-6.3	6.8-13.3	6.8	6
<b>Octadeca-9:12-dienoico (18:2 n-6)</b>	19.8-20.8	17.0-20.1	19-20	17.4-18.7	18.0-21.1	18.6	18.8
<b>Octadeca-9:12:15-trienoico (18:3 n-3)</b>	60.7-63.4	63.2-67.8	63	63.5-65.1	54.2-64.2	64.6	64.1

En la **figura 3** se muestran las estructuras moleculares de los ácidos grasos en estudio y el contenido de ácidos grasos omega-3 presentes en diferentes semillas se muestra en la **figura 4** (<http://www.bagkf.de/sofa/>).



**Figura 3.** Estructura de los ácidos grasos contenidos en la semilla de chía



**Figura 4.** Contenido de ácidos grasos omega-3 de diferentes semillas.

El aceite contenido en la semilla de chía presenta una gran estabilidad a la oxidación por lo que la semilla puede almacenarse a condiciones ambientales sin deteriorarse; la estabilidad es atribuida a los antioxidantes que contiene, los cuales son la quercitina, el kaempferol, el ácido clorogénico y el ácido cafeíco, (Reyes, E. et. al., 2008). Esto representa una ventaja sobre los aceites de origen marino que también contienen un importante contenido de ácidos grasos omega-3.

Al utilizar la semilla de chía como fuente de ácidos grasos omega-3 se reduce la depredación de las fuentes naturales comunes como el pescado, se suprime la preocupación por la acumulación de toxinas como la dioxina y el mercurio presente en el pescado (<http://www.conanp.gob.mx>).

#### **4.1.3 Ácidos grasos**

Los ácidos grasos se definen como cualquier ácido monocarboxílico alifático que pueda liberarse por hidrólisis de las grasas naturales (Fennema, 2000).

Si se considera que se conocen más de 400 ácidos grasos, los que comúnmente se encuentran en los alimentos son relativamente escasos. Generalmente se encuentran esterificados como parte de los triacilglicéridos y cuando se encuentran en estado libre se debe a que ocurrió una hidrólisis en el enlace éster y la mayoría son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal con número par de carbonos.

##### **4.1.3.1 Ácidos grasos saturados**

Los ácidos grasos saturados más abundantes en alimentos son el ácido laúrico (dodecanoico), el ácido mirístico (tetradecanoico), el ácido palmítico (hexadecanoico) y el ácido esteárico (octadecanoico).

El punto de fusión de éstos ácidos grasos aumenta con el peso molecular y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular.

La estabilidad a los procesos oxidativos de estos ácidos grasos es mayor que la de ácidos grasos insaturados.

#### 4.1.3.2 Ácidos grasos insaturados

Los ácidos grasos insaturados presentan alta reactividad química por la presencia de insaturaciones. Están propensos a oxidación e isomerización. Son abundantes en los aceites vegetales y marinos y su temperatura de fusión disminuye al incrementarse el número de insaturaciones. A los que poseen una sola doble ligadura se llaman monoinsaturados o monoenoicos, a los que presentan más de una doble ligadura se les denomina poliinsaturados o polienicos.

Las insaturaciones presentan isomerismo geométrico (*cis*, *trans*) y posicional dependiendo de la localización de las insaturaciones. En forma natural la mayoría se encuentran en isomería *cis*; las formas *trans* se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales. Los isómeros *trans* son termodinámicamente más estables que los *cis*.

#### 4.1.3.3 Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) tienen efectos en diferentes procesos fisiológicos que impactan a la salud y son agentes reguladores de los niveles de lípidos en la sangre, funciones inmunológicas y cardiovasculares, acción de la insulina, desarrollo neural y función visual. También reducen el nivel de triglicéridos y la viscosidad de la sangre, tienen actividad antitrombótica y fibrinolítica y reducen la isquemia lo que aparentemente se debe a la incorporación de ácido eicosapentanoico en los fosfolípidos de la membrana celular (Calvani, 2003).

Una manera de nombrar a los ácidos grasos es distinguiéndolo de acuerdo a la localización del doble enlace que está más cerca del metilo terminal, el carbono omega ( $\omega$ ): por ejemplo, el ácido linoléico que presenta dos insaturaciones (9, 12-octadecadienoico) se denomina ácido 18:2 $\omega$ 6 o n-6.

El ácido linoléico (n-6) y el alfa-linolénico (n-3) no pueden ser sintetizados por humanos por lo que resultan ser beneficiosos en la dieta.

El ácido alfa-linolénico se encuentra en verduras verde oscuro, tales como el brócoli y la espinaca, y en oleaginosas y cereales. El ácido linoléico se encuentra en animales marinos como el atún y sardinas.

El consumo de ácidos grasos omega-3 está asociado a la disminución de triglicéridos y modifica el factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares. También reduce la producción en el hígado de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) en un 32% (Micallef, 2009), lo cual:

- Incrementa la síntesis de las lipoproteínas de alta densidad (HDL)
- Disminuye la disponibilidad de ácidos grasos libres de reserva adiposa
- Suprime la actividad lipogénica
- Incrementa la actividad de la enzima de la síntesis de triglicéridos
- Incrementa la producción de fosfolípidos.

Para la salud humana es muy importante la prevención secundaria realizada con suplementos alimenticios de omega-3, ya que reduce la mortalidad prematura por enfermedades de las arterias coronarias.

Algunos estudios han mostrado que el consumo de omega-3 reduce la incidencia de ciertos tipos de cáncer, enfermedades inflamatorias, diabetes mellitus, esclerosis múltiple y depresión clínica (Micallef, 2009); éstos también previenen el cáncer ya que actúan como reguladores de segundos mensajeros y de la cascada de células cancerosas inhibiendo el desarrollo del tumor (Calvani, 2003).

En Estados Unidos de América se recomienda una ingesta que represente el 7% del total de energía ingerida, mientras que en Japón se estima un valor de 26% (Calvani, 2003).

Los ácidos grasos poliinsaturados están presentes en los aceites de origen vegetal; las cantidades y proporción en el que se encuentran dependen del origen de éstos.

Se encuentran de forma natural en diversos alimentos como el salmón, frutos secos como en almendras, nueces y semillas de soya, entre otros como los aceites comestibles y su proporción depende del vegetal de origen, canola, soya, maíz, oliva entre otros, ya que éstas no tienen el mismo perfil de ácidos grasos.

La industria ha creado alimentos funcionales añadiendo ácidos omega-3 a aquellos que no los contienen naturalmente como en la leche en donde se sustituye la grasa de origen animal (saturada) por poliinsaturada.

Por todos los beneficios que representa una dieta donde se incluya el consumo de omega-3, se han lanzado al mercado alimentos fortificados con estos, tal es el caso de huevos producidos por gallinas que son alimentadas con dietas ricas en ácidos grasos omega-3, suplementos como aceites de pescado o derivados de algas, leche, margarinas y pan.

#### **4.1.4 Degradación de lípidos**

##### **4.1.4.1 Oxidación de lípidos**

La oxidación de los lípidos es una de las causas del deterioro de alimentos y propicia la aparición de sabores y aromas indeseados en los alimentos que los contienen. La autooxidación que se refiere a la reacción con oxígeno molecular mediante mecanismo catalítico, es la principal responsable de las reacciones de deterioro oxidativo de los lípidos.

#### 4.1.4.2 Autooxidación

La autooxidación ocurre por mecanismos en los que participan los radicales libres. Su mecanismo genera compuestos que mantienen y aceleran la reacción.

Para que inicie la autooxidación se necesitan catalizadores ya que el oxígeno en estado normal (triplete), en donde los dos electrones de los orbitales 2p antienlazantes tienen el mismo spin pero en diferentes orbitales, es poco electrófilo por lo que no actúa por sí solo a los dobles enlaces; el oxígeno singlete sí es electrófilo y se une a los dobles enlaces de los ácidos grasos directamente. En el estado singlete los dos electrones tienen espines opuestos lo que propicia el estado activado del oxígeno.

Para explicar la autooxidación se ha postulado un mecanismo simplificado en tres etapas: iniciación, propagación y terminación.

La etapa de iniciación ocurre cuando se forma un radical  $R\bullet$  por acción de luz ultravioleta, la presencia de un metal o algún radical prooxidante.

En la producción de los primeros radicales libres para la reacción de propagación se deben tener catalizadores debido a que este paso es termodinámicamente difícil.

Después de la iniciación, la propagación ocurre al reaccionar el radical  $R\bullet$  con el oxígeno molecular en estado activado y se producen nuevos radicales libres. Paralelamente, también es posible la formación de radicales peróxido ( $ROO\bullet$ ).

Los productos primarios de la autooxidación, llamados hidroperóxidos, son relativamente inestables e intervienen en reacciones de degradación formando numerosos compuestos.

La terminación sucede cuando los radicales presentes interactúan entre sí formando productos más estables.



#### 4.1.5 Otras características de la semilla de chía

##### *Mucílago*

En la literatura se encuentran estudios del contenido de mucílago de la semilla de chía así como la estructura del mismo; algunos de éstos informan que un 4.5% (Kuei-Ying, 1994) a 5% (Ayerza, 2001) del peso de la semilla es mucílago, el cual es capaz de absorber agua hasta 15 veces su peso (Vázquez, 2009), lo que confiere propiedades espesantes a la semilla de chía.

##### *Otros nutrimentos*

El contenido de proteína en la semilla de chía es de 19-23% (Ayerza, 2001) cuyo porcentaje es mayor al indicado para otros granos como se muestra de forma comparativa en la **tabla 2**.

**Tabla 2:** Contenido protéico de algunas semillas y granos

<b>Semilla/grano</b>	<b>% Proteína</b>
Chía	19-23
Trigo	14
Maíz	14
Arroz	8.5
Avena	15.3
Amaranto	14.8

La semilla de chía es una buena fuente de vitamina B, calcio, fósforo, potasio, zinc y cobre ([www.eatchia.com](http://www.eatchia.com)).

En la **tabla 3** se muestra la composición de la semilla de chía de acuerdo a la USDA.

**Tabla 3.** Composición de la semilla de chía.

<b>Componente</b>	<b>%</b>
Humedad	4.90
Proteínas	15.62
Lípidos totales	30.75
Cenizas	4.87
Carbohidratos	43.50
Fibra dietaria total	37.70

Datos publicados por USDA, 2009

## **4.2 Extracción con scCO<sub>2</sub>**

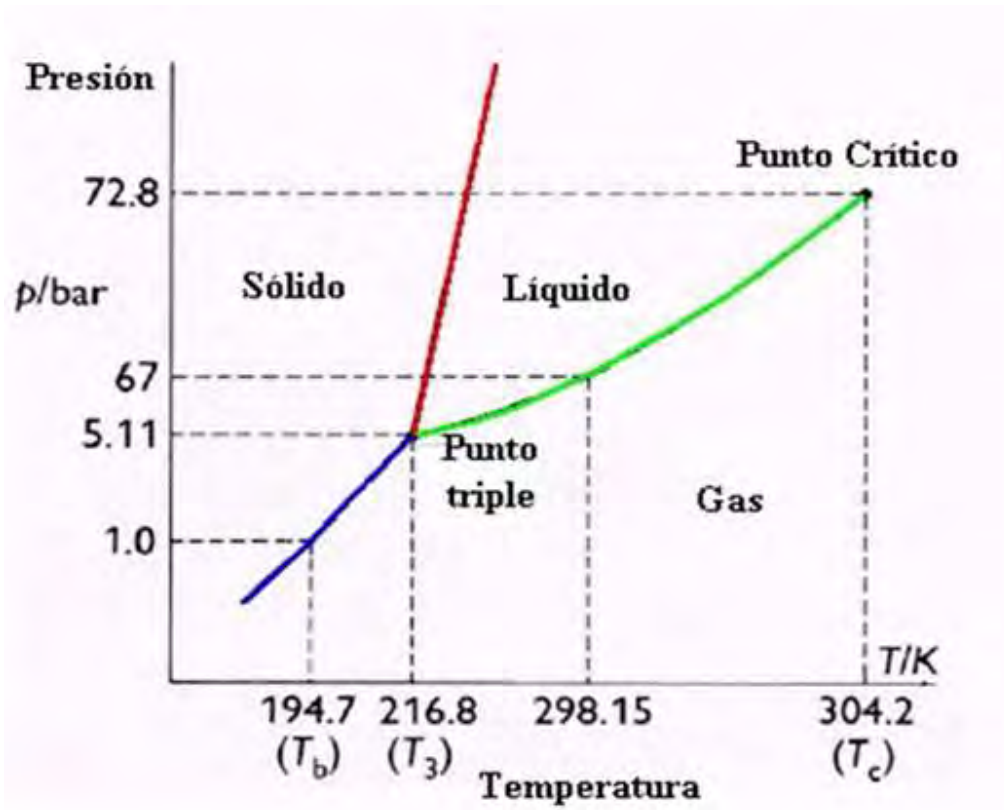
La extracción con fluido supercrítico se define como el uso de fluidos supercríticos (SF) para remover selectivamente analitos de matrices sólidas, semisólidas y líquidas (Taylor, 1996).

### **4.2.1 SF**

Un SF es un estado de la materia en el cual la fase líquida y la fase gaseosa no se pueden distinguir entre sí debido a que se comporta como un gas pero tiene la densidad de un líquido.

En un diagrama de fases (**figura 5**), el cual es específico para cada sustancia, se pueden visualizar los diferentes equilibrios en los que coexisten las fases de dicha sustancia. En ésta representación gráfica se ubica el punto crítico (PC) en el cual a una temperatura y presión críticas se define que al aumentar la presión no existirá licuefacción y al aumentar la temperatura no se formará un gas.

El punto crítico ( $T_c$ ,  $P_c$ ) representa la temperatura y presión más altas a las que existe una sustancia en equilibrio líquido-vapor.



**Figura 5.** Diagrama de fases del CO<sub>2</sub> ([http:// ram.meteored.com](http://ram.meteored.com)).

### **4.2.2 Características de los fluidos supercríticos**

Los SF no son gases ni líquidos; sin embargo, presentan difusividad parecida a los gases y un poder de solvatación similar a los líquidos. La difusividad es mayor en los gases debido a la movilidad de las moléculas.

Es muy importante tomar en cuenta las propiedades del SF que se relacionan con el proceso de extracción; el SF debe presentar un poder solvatante directamente relacionado con la densidad, tener una difusividad relativamente alta y una densidad baja además de una tensión superficial mínima.

El poder disolvente de los SF incrementa con la densidad, la cual aumenta al incrementar la presión, por otro lado el aumento de la temperatura favorece la solubilidad de los sustratos.

La difusividad incrementa con el aumento de la temperatura.

### **4.2.3 Extracción con SF**

En un estudio de extracción supercrítica (SFE) las temperaturas más empleadas caen en el rango de 30-150°C.

Los factores que determinan el grado de extracción son los siguientes:

- Solubilidad del analito en el SF utilizado
- Interacción analito-matriz
- Ubicación del analito en la matriz
- Porosidad de la matriz

El dióxido de carbono es el gas más utilizado en los estudios de extracción supercrítica por las siguientes características (Taylor, 1996):

- No es tóxico
- No es combustible
- Alcanza fácilmente los parámetros críticos

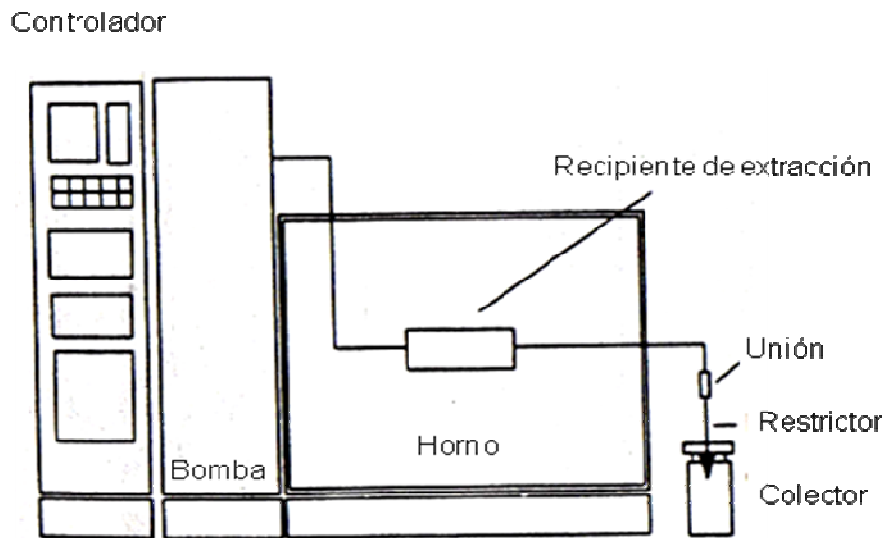
- Comercialmente se consigue con alta pureza
- No destruye la capa de ozono

Las condiciones críticas del dióxido de carbono son a una temperatura de 31.1°C y presión de 72.8 atm (Taylor, 1996), por lo que al mantener el sistema con una temperatura y presión por encima de éstas se tendrán las condiciones de SF. Cabe mencionar que a mayores densidades el poder solvatante aumenta significativamente.

La molécula de CO<sub>2</sub> no presenta momento dipolo por lo que se considera usualmente como no polar, sin embargo presenta un poder solvatante elevado debido a su configuración molecular, ya que su dipolo inducido ácido/base le permite solvatar un gran número de sustancias. Sin embargo al añadir co solventes, se disuelven analitos polares que requieren más interacciones con el disolvente o analitos de alto peso molecular. Al no existir todos los diagramas de fase P-T para sistemas que incluyan co solventes, no se puede saber con certeza el comportamiento del fluido además de que se obtienen extractos con residuos de co solvente.

Los componentes básicos de un extractor analítico de SF **figura 6** *off-line* (Taylor, 1996) el cual se utiliza usualmente para optimizar las condiciones de extracción son:

- Suministro de CO<sub>2</sub> u otro fluido
- Compresor de gas o bomba
- Zona de calentamiento u horno
- Recipiente de extracción
- Restrictor o calentador de salida o de válvula
- Trampa o acumulador de extracto



**Figura 6.** Componentes básicos de un extractor de alta presión (Taylor, 1996).

#### 4.2.4 Aplicación de SF en la industria alimentaria

En la industria de los alimentos se ha aplicado la extracción con SF y el CO<sub>2</sub> es el más empleado porque debido a su temperatura crítica baja (31.1°C) resulta ideal para extraer compuestos termolábiles además de sus ventajas ya mencionadas.

Industrialmente se utiliza para extracción de cafeína del café, extracción de lúpulo, extracción de aceites naturales (García, 1995) entre otras.

El scCO<sub>2</sub> se ha utilizado recientemente en la extracción de grasas y lípidos de diferentes matrices. Es de particular interés el utilizar la extracción con scCO<sub>2</sub> para aceites y grasas debido a la gran solubilidad que presentan en este medio.

Algunas investigaciones han utilizado la extracción por este método para extraer carotenoides de algas, (Macías, 2009), aceite de amaranto entre otros (Sanchez, 2009).

Algunos estudios recientes han evaluado los efectos de diferentes factores que se tienen en la extracción supercrítica como la presión, la temperatura, adición de co solvente, y tamaño de partícula de la muestra.

### **4.3 Metodología de superficie de respuesta**

Para la optimización de procesos se utiliza la metodología de superficie de respuesta; el diseño más utilizado es el de central compuesto.

La superficie de repuesta es una representación en una hiper-superficie que es un subconjunto de un espacio euclídeo  $(k+1)$  dimensional.

La metodología de superficie de respuesta (MSR), son un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que la respuesta que interesa estudiar está influida por diversas variables y cuyo objetivo, como ya se mencionó, es optimizar la respuesta.

Al utilizar este método se busca establecer experimentalmente una aproximación apropiada de la función  $f$  para lo cual se propone un modelo de ecuación polinomial en los  $k$  factores  $x_1, x_2, \dots, x_k$  y se relaciona un conjunto de tratamientos sobre los que se realizan las observaciones experimentales, que se usan para obtener estimaciones de los coeficientes del modelo propuesto además de obtener la estimación de la variación del error experimental.

Mediante una ecuación polinomial se puede representar la función de la respuesta. La superficie de respuesta con  $k$  factores se representa en  $k+1$  dimensiones (Montgomery, 2004).

### 4.3.1 Polinomio de segundo orden

El modelo de segundo orden es el mostrado en la ecuación 1.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad \text{Ecuación 1}$$

En donde los  $\beta_i$  son los coeficientes de regresión para los términos de primer orden, los  $\beta_{ii}$  son los coeficientes para los términos cuadráticos puros, los  $\beta_{ij}$  son los coeficientes para los términos de producto de interacciones y  $\varepsilon$  es el término de error aleatorio.

El número de términos en la ecuación está dado por  $p=(k+1)(k+2)/2$

#### 4.3.1.1 Diseño factorial $2^k$

En un diseño factorial  $2^k$ ,  $k$  representa el número de factores los cuales se codifican a los niveles estandarizados  $\pm 1$ . Este diseño no permite estimar el error experimental a menos que se repitan los experimentos, para lograr esto se realizan varias observaciones del punto central del diseño.

Un diseño experimental de segundo orden debe tener al menos tres niveles de cada factor (-1, 0, +1). Al desconocer la localización del punto óptimo es de gran utilidad utilizar un diseño que proporcione estimaciones en todas direcciones, por lo que debe ser rotatable; es decir, que la varianza de la respuesta predicha sólo dependa de la distancia del punto del centro del diseño y no de la dirección.

Dentro de los diseños rotatables de segundo orden se incluye el diseño central compuesto.



### 4.3.1.2 Diseño central compuesto

El diseño de central compuesto está conformado por tres partes:

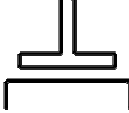

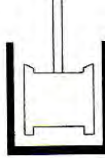

- **Parte factorial:** un diseño factorial  $2^k$ , completo o fraccional, en el que los niveles están codificados en la forma habitual como  $\pm 1$ .
- **Puntos centrales:** el número de puntos centrales es igual o mayor a 1 ( $n_0 \geq 1$ ).
- **Parte axial:** dos puntos axiales en los ejes correspondientes a cada uno de los factores, de tal manera que el número total de puntos del diseño sea  $N=2^k+2k+n_0$

## 4.4 Reología

La reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia. La manera en la cual los materiales responden a la tensión o esfuerzo aplicados.

En el área de alimentos se utiliza para cálculos de ingeniería para equipos como bombas, mezcladores, homogeneizadores etc. también se utiliza para determinar la funcionalidad de ingredientes en un nuevo producto, para el control de calidad, en estudios de vida media, en evaluación de textura de alimentos para correlacionarlo con datos sensoriales.

Los instrumentos reológicos incluyen los de tipo rotacional los cuales se muestran en la **figura 7**.

Platos paralelos	Cono y plato	Cilindro concéntrico	Mezclador
			

**Figura 7.** Tipos de instrumentos reológicos, (Steffe, 1992).

#### 4.4.1 Tipos de fluidos

##### Fluidos Newtonianos

- Newtonianos: los fluidos Newtonianos son aquellos que cumplen con la Ley de Newton es decir que la viscosidad se mantiene constante con el tiempo y presenta una relación lineal.

##### Fluidos no Newtonianos

- Tixotrópicos: Se trata de fluidos no-Newtonianos dependientes del tiempo, alcanzan un valor constante de viscosidad aparente después de transcurrido el tiempo.
- Líquidos de Bingham: en este tipo de fluidos después de la aplicación de una fuerza tienen un comportamiento similar a los Newtonianos.
- Pseudoplásticos: Para este tipo de fluidos la viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizallamiento.
- Dilatantes: Es el tipo de fluido en el que al aumentar la velocidad de cizalla incrementa la viscosidad aparente.

#### 4.4.2 Esfuerzo cortante (*shear stress* $\sigma$ ) y velocidad de corte (*shear rate* $\gamma$ )

El esfuerzo cortante (*Shear stress*  $\sigma$ ) se define como una fuerza por unidad de área y se expresa generalmente en Pascales (N/m<sup>2</sup>).

Las sustancias consideradas como fluidos Newtonianos tienen valores de esfuerzo cortante (*shear stress*  $\sigma$ ) directamente proporcional a la velocidad de corte (*shear rate*  $\gamma$ ). La ecuación 2 representa esta proporcionalidad, donde  $\mu$  es la constante de proporcionalidad apropiada para un fluido Newtoniano.

$$\sigma = \mu \gamma$$

Ecuación 2

#### 4.4.3 Fluidos no Newtonianos

El comportamiento de los fluidos no Newtonianos se describe con el modelo de Herschel-Bulkley (Ley de Potencia):

$$\sigma = K (\gamma)^n + \sigma_0$$

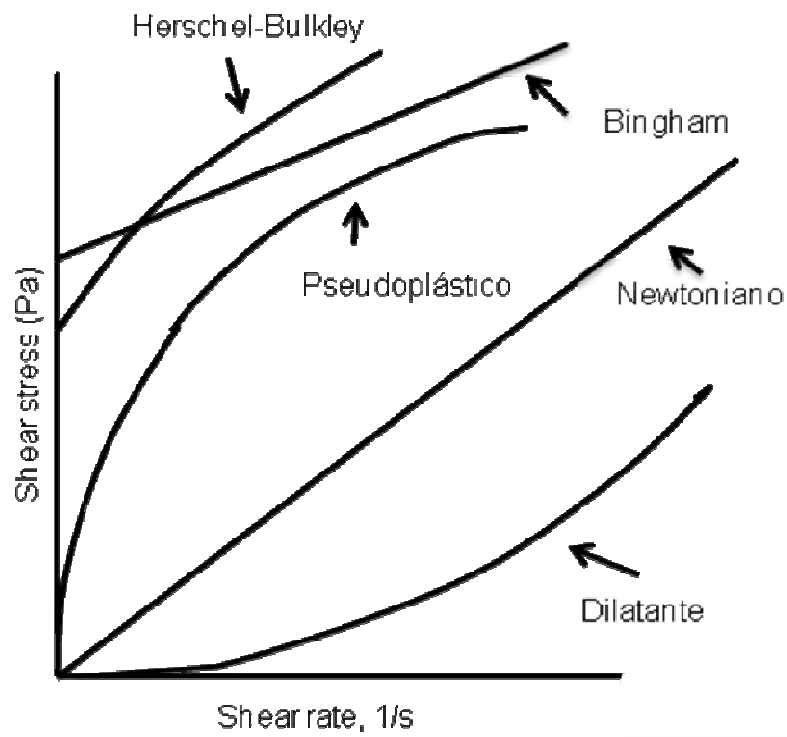
Donde  $K$  es el índice de consistencia (Pa s<sup>n</sup>),  $n$  es el índice de comportamiento de flujo,  $\sigma_0$  es la fluencia,  $\sigma$  representa el esfuerzo (Pa) y  $\gamma$  indica la velocidad de deformación (s<sup>-1</sup>).

Esta ecuación permite al graficar los valores de  $\log \sigma$  contra los valores de  $\log \gamma$  conocer el valor de la pendiente que corresponde a  $n$  cuyo valor indica el comportamiento del fluido.

Con los modelos Newtonianos  $K$  se llama viscosidad ( $\mu$ ) y es mayor a cero,  $n$  es igual a 1 y el valor de  $\sigma_0$  es cero. Ejemplos típicos son la leche, el agua, el jugo de fruta, la miel y los aceites vegetales (Steffe, 1992).

Para fluidos no Newtonianos el valor de  $K$  es mayor a cero, el valor de  $n$   $0 < n < \infty$  y  $\sigma_0$  debe ser mayor a cero.

En la **figura 8** se muestra el comportamiento de los fluidos. Para los fluidos con comportamiento pseudoplástico los valores de  $K$  son mayores a cero,  $0 < n < 1$ , y  $\sigma_0$  es cero. Los fluidos dilatantes  $K > 0$ ,  $1 < n < \infty$  y  $\sigma_0$  debe ser cero. Para el modelo plástico de Bingham  $K > 0$ ,  $n = 1$  y  $\sigma_0 > 0$



**Figura 8.** Comportamiento de fluidos, (Steffe, 1992).

#### 4.4.4 Modelo de Arrhenius

En los fluidos Newtonianos la temperatura tiene influencia sobre la viscosidad, la cual es la propiedad que define la magnitud de su resistencia debida a las fuerzas de cizalla en su interior (Singh, et al., 1998), esto se puede expresar con la ecuación de Arrhenius (ec. 3).

$$\mu = f(T) = A \exp\left(\frac{Ea}{RT}\right) \quad \text{Ecuación 3.}$$

El término  $T$  se refiere a la temperatura absoluta,  $R$  es la constante de los gases,  $Ea$  es la energía de activación la cual al igual que  $A$  se determinan experimentalmente.

En la relación de Arrhenius (ecuación 3) se describe el efecto de la Temperatura sobre la viscosidad aparente.

$$\eta = k e^{(-Ea/RT)} \quad \text{Ecuación 4.}$$

$\eta$  = viscosidad

$k$  = factor preexponencial

$E_a$  = energía de activación (cal/mol)

$R$  = constante de los gases (1.987 cal/molK)

$T$  = Temperatura (K)

Un valor más alto de  $Ea$  indica un cambio más rápido en la viscosidad con la temperatura.

#### 4.4.5 Viscosímetro de placas paralelas

El esfuerzo cortante (*shear stress*) se puede determinar de la respuesta de torque en el instrumento el cual la evalúa mediante la construcción de una ecuación de balance de fuerzas en el disco e integrando sobre el radio. En el sistema de placas paralelas la fuerza de cizalla es función del radio lo que hace el cálculo más complicado.

La energía de activación es un parámetro que refleja la estabilidad de la viscosidad ante la temperatura del aceite. Un valor mayor de energía de activación indica una menor estabilidad ante la temperatura, mientras que un valor menor de energía de activación indica una mejor estabilidad ante la temperatura.

#### 4.5 Cromatografía de gases

La cromatografía es un método analítico de separación en el que los analitos se distribuyen entre dos fases.

En la cromatografía de gases se hace pasar el analito en fase gaseosa a través de la columna, el analito es arrastrado por un gas portador, el más empleado es el helio.

La fase móvil la cual es el disolvente que desciende a través de la columna es un líquido o un gas. La fase estacionaria es la que se encuentra fija en el interior y normalmente es un líquido viscoso enlazado químicamente a las paredes interiores del tubo capilar o a la superficie de las partículas sólidas empaquetadas dentro de la columna.

La fase móvil atraviesa la columna en un mínimo de tiempo posible el cual se designa como tiempo muerto  $t_m$ . El tiempo de retención ajustado de un soluto es la diferencia entre el tiempo que tarda un soluto en atravesar toda la columna y el que emplea un disolvente no retenido:  $t'_r = t_r - t_m$ .

### **4.5.1 Cromatograma**

Un cromatograma es una representación de la respuesta del detector en función del tiempo de elución. El tiempo de retención  $t_r$  de un componente es el tiempo que transcurre desde la inyección de una mezcla en la columna hasta que ese componente llega al detector.

### **4.5.2 Análisis de la muestra**

Para el análisis de la muestra ésta se inyecta a través de un septo en el inyector el cual está caliente por lo que se evapora rápidamente. El vapor es arrastrado por la columna por el gas portador el cual puede ser He, N<sub>2</sub> o H<sub>2</sub> y después los analitos llegan al detector. La temperatura de la columna es importante ya que debe permitir que los analitos alcancen una presión de vapor adecuada y ocurra la elución. El detector debe estar a mayor temperatura que la columna para que los analitos estén en estado gaseoso.

### **4.5.3 Columna cromatográfica**

Comúnmente el tipo de columnas utilizadas son las tubulares abiertas las cuales están hechas con sílice fundida (SiO<sub>2</sub>) recubiertas de poliimida la cual resiste hasta 350°C y da soporte y protección a la columna.

Las columnas tubulares abiertas de pared recubierta (WCOT) se encuentran recubiertas en su interior por una fase estacionaria líquida de un grosor de 0.1 a 0.5 µm. La fase estacionaria líquida recubre el interior de la columna.

Otro tipo de columnas son las tubulares abiertas recubiertas de soporte (SCOT) en donde la fase estacionaria líquida recubre a un soporte sólido, que se encuentra unido a la pared interior de la columna.

Por su parte en la columna tubular abierta de capa porosa (PLOT) la pared interior se encuentra recubierta de una fase estacionaria sólida.

#### 4.5.4 Programa de temperatura

La utilización del programa de temperatura tiene la finalidad de aumentar la presión de vapor de los solutos al incrementar la temperatura de la columna durante la separación, para disminuir los tiempos de retención de los componentes que eluyen al final.

#### 4.5.5 Eficiencia de la separación

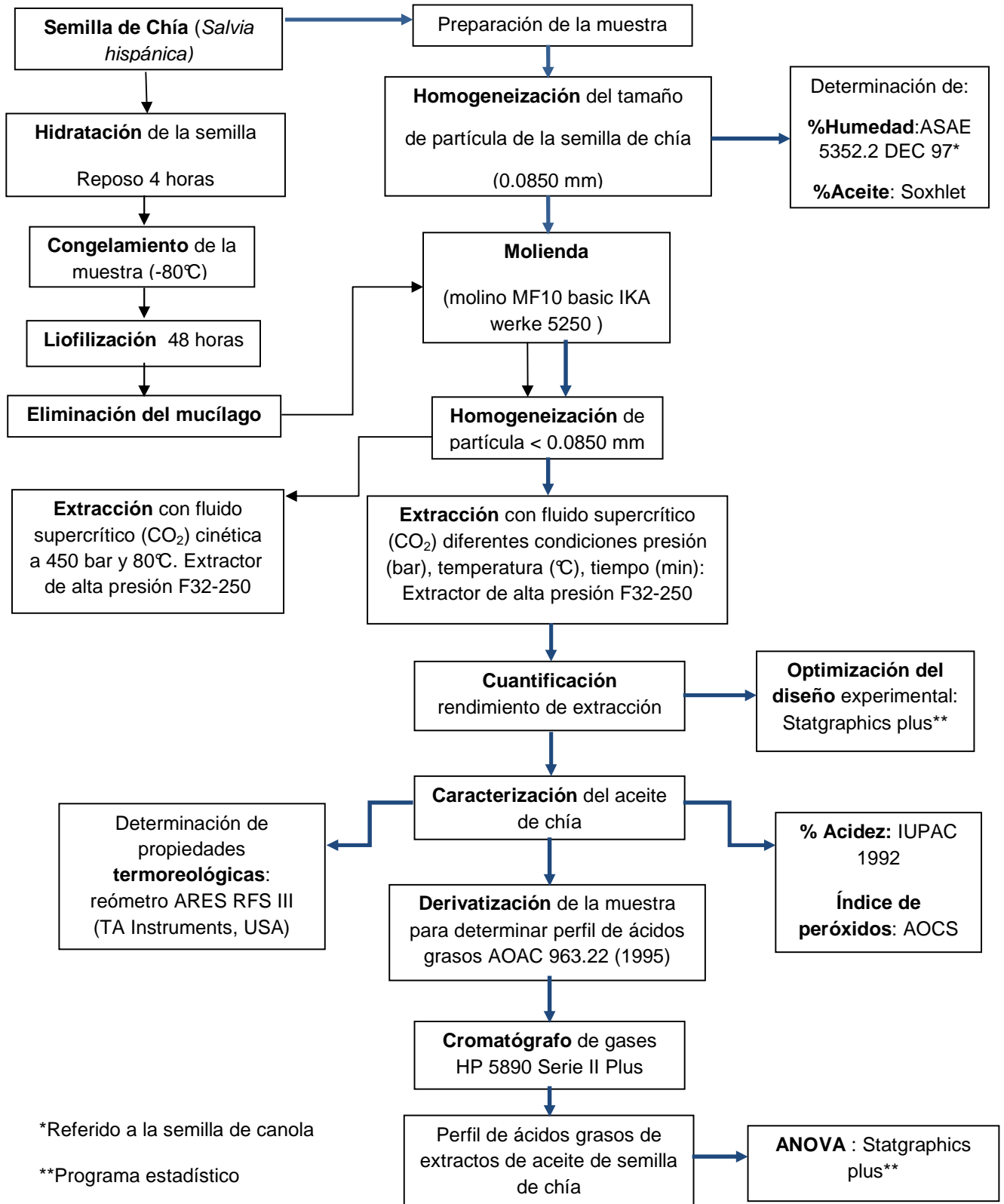
Para medir la eficacia de la separación se utilizan dos factores, uno es la diferencia en los tiempos de elución de los picos, entre más distantes las separación es mejor y el otro factor es el ancho de los picos se prefiere una menor anchura para una buena separación ya que los solutos tienden a difundirse al pasar por la columna cromatográfica cuanto más tiempo pasa el soluto en la misma.

La resolución mide la capacidad de una columna cromatografica de separar dos analitos. Se define como la distancia entre los picos de las bandas, dividida entre el ancho promedio de las bandas.

$$R = \frac{tr'2 - tr1}{0.5 (w2 + w1)}$$



## 5 Diagrama general del experimento



\*Referido a la semilla de canola

\*\*Programa estadístico

**Figura 9.** Diagrama general del experimento.

## 6. Materiales y métodos

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron semillas de chía (*Salvia hispánica L.*) del estado de Jalisco como materia prima.

### 6.1 Preparación de la muestra

#### 6.1.1 Homogeneización

Se realizó la homogeneización del lote de semilla de chía para eliminar la materia extraña presente, se utilizó para ello un tamiz número 20 (USA Standard Testing Sieve 850  $\mu\text{m}$ ), desechando las partículas cuyo tamaño era menor a 0.085 mm.

#### 6.1.2 Determinación de humedad

La determinación de humedad de la semilla de chía se realizó por triplicado de acuerdo al método estándar ASAE 5352.2 DEC 97 el cual está establecido a la semilla de canola. El método consistió en pesar 10 g de la semilla en un pesafiltros a peso constante el cual se colocó en una estufa durante 4 horas a 130°C. Posteriormente se calculó el porcentaje de humedad en base seca (%H<sub>b.s.</sub>) utilizando la ecuación 5.

$$\%H_{b.s.} = \frac{[\text{Pérdida de peso (g)}]}{[\text{Peso muestra final (g)}]} * 100$$

Ecuación 5.

### **6.1.3 Obtención de la harina de chía**

Una vez homogeneizada la muestra se pulverizó haciéndola pasar por un molino (MF 10 basic Microfine grander drive, IKA 5250) con un cabezal de molienda de impacto. Se homogeneizó el tamaño de partícula utilizando un tamiz número 20 (USA Standard Testing Sieve 850  $\mu\text{m}$ ) desechando las partículas con un tamaño mayor a 0.085 mm.

### **6.2 Determinación de contenido de aceite por el método Soxhlet**

Se extrajo el aceite de una muestra de la harina antes obtenida mediante el método de extracción semicontinua Soxhlet. Se utilizó n-hexano como disolvente a 140°C durante 8 horas.

La eliminación del disolvente se realizó con un rotavapor (Büchi R-124) a 45°C con un baño de agua (Büchi Waterbath B-481) utilizando presión reducida (-30 kPa).

Mediante gravimetría se determinó la cantidad de aceite extraído el cual se almacenó en un frasco ámbar con una atmósfera de nitrógeno a 5°C.

### **6.3 Extracción con (scCO<sub>2</sub>)**

El desarrollo experimental de la extracción con scCO<sub>2</sub> se realizó en un extractor de alta presión SFT-250 SFE/SFR (Supercritical Fluid Technology, Inc., Newark, Del., USA) utilizando un vaso de extracción de 0.5 L.

Para cada extracción se colocó el harina de semilla de chía (110-120 g) en el vaso de extracción, así mismo se programaron las condiciones de acuerdo al diseño experimental. Una vez alcanzada la temperatura (°C) deseada, se bombeó CO<sub>2</sub> al vaso de extracción mediante una bomba de pistones (Haskel) hasta el valor de presión correspondiente. Al alcanzar las condiciones determinadas para cada ensayo se abrió la válvula de restricción y a partir de este momento se empezó a contar el tiempo de extracción.

El aceite extraído fue colectado y cuantificado gravimétricamente en una balanza de precisión (Sartorius BL 610, Alemania). Se almacenó en un frasco ámbar y se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno.

#### 6.4 Optimización del diseño experimental de la extracción con $\text{scCO}_2$

Para este diseño experimental se realizaron 18 experimentos variando las condiciones de presión (bar), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y tiempo (min) de extracción las cuales son las tres variables experimentales.

El tamaño de partícula se mantuvo invariablemente menor a 0.085 mm y el flujo de  $\text{CO}_2$  a 4.0 +/-0.5 lb/h.

El análisis de datos del rendimiento del aceite extraído con SF se realizó con el método de superficie de respuesta (RSM) para la optimización del experimento. Para esto se aplicó el diseño de central compuesto rotatable (CCRD) en el que se incluyeron tres factores  $X_1$ =temperatura,  $X_2$ =presión y  $X_3$ =tiempo, para cada uno se establecieron tres niveles, los cuales se muestran en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Codificaciones para las diferentes condiciones experimentales.

Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Presión (bar)	Tiempo (min)	Codificación
40	250	60	-1
60	350	150	0
80	450	240	+1

La respuesta en el diseño es el rendimiento de aceite extraído, refiriéndose al porcentaje correspondiente de acuerdo a la masa de harina utilizada en cada extracción, expresándola en base seca.

El diseño experimental comprende 18 extracciones divididos en 3 bloques, el primero es el bloque factorial que comprende 8 extracciones, el bloque axial consta de 6 y el punto central cuenta con 4 réplicas de extracción. De acuerdo a esta distribución cumple con el siguiente modelo:

$$N = 2^k + 2k + m \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

N =total de experimentos = 18

k = variables independientes = 3

m =repeticiones del punto central = 4

El modelo se expresa mediante una ecuación polinomial de segundo orden para indicar el rendimiento de aceite de chía (Y) en función de las variables independientes:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_i x_j \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

Y es la variable respuesta,  $\beta_0$  es constante,  $\beta_{is}$  son los coeficientes lineales,  $\beta_{iis}$  son los coeficientes cuadráticos,  $\beta_{ijs}$  son los coeficientes de interacción del modelo, y  $X_i$  y  $X_j$  los valores codificados de las variables independientes.

El análisis estadístico se realizó con el programa Statgraphics Plus 5.1

## 6.5 Caracterización del aceite extraído

### 6.5.1 Propiedades termoreológicas

Se analizaron cada una de las muestras de aceite de chía extraídas para determinar la viscosidad de las mismas, así como la energía de activación de cada muestra, cuyo valor indica la energía mínima que hay que superar para que el proceso de flujo pueda ocurrir.

Para determinar la energía de activación de cada aceite se utilizaron los datos obtenidos con el reómetro para realizar una serie de tratamientos de los datos que proporciona, siguiendo el modelo de Arrhenius con el cual es posible a partir de la viscosidad, obtener la energía de activación.

Se analizaron cada una de las muestras a distintas temperaturas en el reómetro, las cuales fueron 1°C, 5°C, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C, 75°C y 85°C.

Se utilizaron placas paralelas en el estudio y un GAP de 0.5 mm, cuyo valor se refiere al espacio entre una placa y otra.

Dentro de los datos que proporcionó el reómetro están el esfuerzo cortante (*shear stress*) y velocidad de corte (*shear rate*), a partir de los cuales al graficar *shear stress* (Pa) en función de los valores de *shear rate* (1/s), se obtuvo un comportamiento lineal. Para cada una de las temperaturas (°C) corresponde una ecuación de regresión lineal, cuya pendiente indicó la viscosidad del aceite a determinada temperatura.

Una vez obtenidos los datos de viscosidad se graficó *log Viscosidad* (Ns/m<sup>2</sup>) en función de  $1/T$  en temperatura absoluta (K). Se obtuvo para cada muestra una gráfica del comportamiento lineal y a partir de la regresión lineal del gráfico antes descrito, se obtuvo la pendiente de la misma y se calculó la energía de activación (cal/mol) como se muestra a continuación:

Siguiendo el modelo de Arrhenius con la ecuación  $\eta = Ke^{-E_a/RT}$ , después del correspondiente tratamiento de la ecuación, se expresa el valor de la

pendiente como:  $m = \frac{E_a}{2.203 R}$

Donde  $R$  se refiere a la constante de los gases (1.987 cal/molK); se calcula así la energía de activación para cada muestra de aceite.

### 6.5.2 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable se realizó de acuerdo a la IUPAC 2.201.

Se colocó en un matraz Erlenmeyer de 50 mL 0.50 g de aceite de chía y se agregaron 25 mL de alcohol, así como 3 gotas de solución de fenolftaleína al 1%. Posteriormente se calentó en agua a ebullición y se tituló en caliente con KOH 0.0025 mol L<sup>-1</sup>.

El cálculo de la acidez titulable se realiza utilizando la ecuación 8, en donde el término 56.1 se refiere al peso molecular del hidróxido de sodio.

$$\text{Valor ácido} = \frac{\text{Volumen gastado (mL)} * M * 56.1}{\text{Peso de la muestra empleada}} \quad \text{Ecuación 8}$$

El valor ácido se expresa como porcentaje de ácido oléico mediante la ecuación que a continuación se muestra, en donde se utiliza en peso molecular del ácido oléico (282 g/mol) como factor de conversión.

$$\% \text{Oléico} = \frac{282 * M * \text{Titulo (mL)}}{10 * \text{Peso de la muestra empleada}} \quad \text{Ecuación 9}$$

### 6.5.3 Índice de peróxidos

La determinación del índice de peróxidos se realizó de acuerdo a la AOCS Oficial method Cd-8-53, 1997. Sin embargo debido a la cantidad de muestra de aceite disponible para las determinaciones, se utilizó cada reactivo respetando las proporciones a una décima parte.

Se pesaron 0.5 g de aceite en un matraz Erlenmeyer a los cuales se les agregaron 2.5 mL de ácido acético/diclorometano (3:2) y 0.05 mL de solución de KI, se dejó en oscuridad durante 60 segundos, transcurridos éstos se agregaron 7.5 mL de agua desionizada.

Se realizó la titulación con una solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$   $4.92 \times 10^{-4}$  M, utilizando almidón como indicador.

El cálculo del índice de peróxidos se realizó de acuerdo a la ecuación 10, cuyo resultado se expresa en mEq de peróxido por kg de muestra.

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{(V \text{ gastado} - V \text{ blanco}) * N * 1000 \frac{g}{kg}}{m(g) \text{ muestra}}$$

Ecuación 10

### 6.5.4 Índice de yodo

De acuerdo a la AOAC 1998, a partir del perfil de ácidos grasos del aceite se puede calcular éste valor con la siguiente expresión:

Índice de yodo:  $0.860 (\%C:18:1) + 1.732 (\%C:18:2) + 2.616 (\%C:18:3)$



### 6.5.5 Índice de saponificación

La AOAC 1998 indica el cálculo de este valor, para esto es necesario conocer el perfil de ácidos grasos del aceite y obtener el peso molecular promedio del mismo y de acuerdo a lo obtenido se utiliza la ecuación 11 donde se incluyen los factores de conversión necesarios tomando en cuenta la reacción de saponificación ya que el factor numérico 3 se refiere al número de ácidos grasos de un triacilglicerol, el 56.1 representa el peso molecular del hidróxido de potasio en g/mol, se incluye además el factor de conversión de unidades de miligramos a gramos por lo que se multiplica por 1000. Se utilizan los pesos moleculares del glicerol y del agua los cuales son 92.09 g/mol y 18 g/mol respectivamente.

$$\text{índice de saponificación} = \frac{3 * 56.1 * 1000}{(PM * 3) + 92.09 - (3 * 18)} \quad \text{Ecuación 11}$$

## 6.6 Cuantificación de ácidos grasos

### 6.6.1 Derivatización de la muestra

Se determinó el perfil de ácidos grasos del aceite de chía por cromatografía de gases de acuerdo a la NOM-490-1999, la cual se basa en la AOAC Oficial Method 963.22 (1995). Se siguió el siguiente procedimiento para la derivatización de la muestra.

Se pesaron 500 mg de aceite de chía y se colocaron en un matraz de bola de 50 mL; se agregaron 6 mL de solución metanólica de NaOH 0.5 M. Se llevó a calentamiento durante 5 minutos manteniendo una temperatura a 40°C. Transcurridos estos se agregaron 7 mL de disolución metanólica de trifloruro de boro por el extremo superior del refrigerante y se calentó por 5 minutos más. Posteriormente se agregaron 4 mL de hexano, y se dejó enfriar el sistema; después se añadieron 10 mL de disolución saturada de NaCl y se agitó suavemente; se agregó mas solución saturada de NaCl para llevar la fase orgánica al cuello del matraz la cual se trasvasó a un tubo con 0.5 g de sulfato de

sodio anhidro para la eliminación total de agua. La fase orgánica, libre de agua, se dispuso en viales con atmósfera de nitrógeno y se almacenaron protegidas de la luz a -20°C.

### 6.6.2 Determinación del perfil de ácidos grasos

Para determinar el perfil de ácidos grasos se inyectaron las muestras derivatizadas en un cromatógrafo de gases (HP 5890 Serie II Plus), mediante inyección automática (HP 7673). El cromatógrafo utilizado cuenta con un detector de ionización de llama (FID). La separación cromatográfica se realizó con una columna de CG (Chrompack WCOT fused silica 30 m. 0,25 mm: coating: CP WAX 52CB DF=0.25µm).

Las muestras se inyectaron a una temperatura de 260°C. La temperatura inicial de la columna fue de 170°C y se utilizó una rampa de temperatura a una razón de 2.5 °C/min hasta 190°C la cual se mantuvo durante 1 minuto seguida de un incremento de 1°C/min hasta 205°C.

Para la identificación de los ésteres metílicos se inyectaron previamente al cromatógrafo de gases patrones de referencia de los ácidos grasos (SIGMA-Aldrich y Matreya) los cuales se derivatizaron como se mencionó anteriormente.

La cuantificación de los ácidos grasos se expresó en porcentajes relativos de ácidos grasos.

Una vez determinado el perfil de ácidos grasos, se determinó la relación de ácidos grasos poliinsaturados con los saturados de acuerdo a la ecuación 12.

$$PUFA/SFA = \frac{[(\text{oléico} + \text{linoléico} + \text{linolénico})]}{[\text{palmítico} + \text{esteárico}]} \quad \text{Ecuación 12}$$

La relación Ω6:Ω3 expresa la relación entre el ácido linoléico, cuya primera insaturación se encuentra en la posición 6 a partir del metilo terminal, y el ácido linolénico cuya primera insaturación se encuentra en la posición 3, por lo que Ω6:Ω3=%relativo ácido linoléico /%relativo ácido linolénico.

## **6.7 Cinética de extracción**

Una vez optimizado el diseño, se realizó la cinética de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>, cuantificando el extracto gravimétricamente en lapsos de 15 minutos.

## **6.8 Muestra sin mucílago**

### **6.8.1 Homogeneización**

Previa a su utilización, se realizó una limpieza a la semilla de chíá tamizándola para eliminar la materia extraña.

### **6.8.2 Hidratación**

La hidratación del mucílago se realizó en una relación 1:10, pesando una parte de semillas por 10 de agua destilada. Se dejó reposar durante 4 horas.

### **6.8.3 Congelación**

Posterior a la hidratación se trasvasó la muestra en recipientes de plástico para congelarlos a -80 °C en el Ultra Low Temperature Freezer REVCO Legacy Refrigeration System modelo ULT 390-3-A30.

### **6.8.4 Liofilización**

La liofilización se realizó durante 48 h para la total eliminación de agua de la semilla en el liofilizador HETO FD 1.0.

### **6.8.5 Eliminación del mucílago**

Una vez deshidratado el mucílago éste se separó de la semilla manualmente para cuantificarlo y obtener la semilla libre de éste.

### **6.8.6 Molienda**

Como se describió en el apartado 6.1.3 se pulverizó la muestra haciéndola pasar por un molino (MF 10 basic Microfine grinder drive, IKA 5250) con un cabezal de molienda de impacto. Se homogeneizó el tamaño de partícula utilizando un tamiz número 20 (USA Standard Testing Sieve 850  $\mu\text{m}$ ) desechando las partículas con un tamaño mayor a 0.085 mm.

### **6.8.7 Extracción con $\text{scCO}_2$**

Al haber optimizado el método de extracción supercrítica mediante el diseño de superficie de respuesta, se realizó la cinética de extracción a las condiciones de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y presión (bar) óptimos utilizando el harina de semilla de chía sin mucílago.

### **6.8.8 Cuantificación**

Se comparó el rendimiento de la extracción con la cinética realizada para la semilla que no fue liofilizada.

### **6.8.9 Derivatización de la muestra**

La derivatización del aceite de chía se realizó de la manera indicada en 3.6.1

### **6.8.10 Determinación del perfil de ácidos grasos**

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó con la misma metodología mencionada en el apartado 3.6.2

## 7. Resultados y discusión

### 7.1 Determinación de humedad y contenido de aceite por el método Soxhlet

Se realizó la caracterización de la semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) proveniente del estado de Jalisco de cada uno de los lotes utilizados. Se trabajó con dos lotes por disponibilidad de la semilla.

El porcentaje de aceite extraído por el método Soxhlet resultó similar para ambos lotes y estadísticamente no presentan diferencias en el contenido de aceite en un 95% de confianza; el contenido de humedad resultó diferente en un 95% de confianza para ambas muestras. El valor promedio de porcentaje de aceite obtenido por el método Soxhlet es de 32.85% <sub>b.s.</sub>, valor que coincide con los indicados en estudios previos de la semilla de chía.

En la **tabla 5** se muestran los resultados del contenido de humedad y de aceite.

**Tabla 5.** Resultado de contenido de humedad y de aceite de la semilla de chía

	<b>%Humedad (b.s.)</b>	<b>%Aceite (b.s.)</b>
	6.33, 7.41	32.85
Desviación estándar		0.05

## 7.2 Extracción del aceite de chía con scCO<sub>2</sub>

El diseño experimental de la extracción del aceite con SF se realizó aplicando el diseño de central compuesto rotatable (CCRD) en el que se incluyeron tres factores  $X_1$ =temperatura,  $X_2$ =presión y  $X_3$ =tiempo, para cada uno se establecieron tres niveles, como se mostró en la **tabla 4**.

La respuesta en el diseño es el rendimiento de aceite extraído, que se refiere al porcentaje correspondiente de acuerdo a la masa de harina utilizada en cada extracción, expresado en base seca.

Se obtuvieron los resultados presentados en la **tabla 6**, en la cual se muestra el rendimiento para cada condición experimental de acuerdo al diseño propuesto, donde las condiciones 80°C en el caso de temperatura, 450 bar para presión y 240 minutos para la variable tiempo están codificadas con **+1**; las condiciones 60°C, 350 bar y 150 minutos están representadas con el código **0** y 40°C, 250 bar y 60 minutos están representados por el código **-1**.

**Tabla 6.** Rendimiento de aceite extraído a las diferentes condiciones.

<b>Temperatura</b>	<b>Presión</b>	<b>tiempo</b>	<b>%Rendimiento (b.s.)</b>
0	0	0	14.76
-1	-1	-1	1.99
1	-1	-1	0.97
-1	1	-1	5.54
1	1	-1	7.75
-1	-1	1	9.69
1	-1	1	3.56
-1	1	1	12.37
1	1	1	29.08
-1	0	0	13.69
1	0	0	11.26
0	-1	0	5.99
0	1	0	13.29
0	0	-1	4.08
0	0	1	18.48
0	0	0	17.21
0	0	0	14.25
0	0	0	17.30

Se obtuvo un rendimiento de 29.08% en las mejores condiciones de extracción supercrítica, este valor representa el 88.52% del total del aceite de la semilla tomando como el 100% el contenido de aceite extraído por el método de Soxhlet.

### 7.3 Optimización del diseño experimental

El método de superficie de respuesta central compuesto para este experimento se ajustó mediante una ecuación polinomial de segundo orden.

La ecuación polinomial ajustada está expresada a continuación en la ecuación 13:

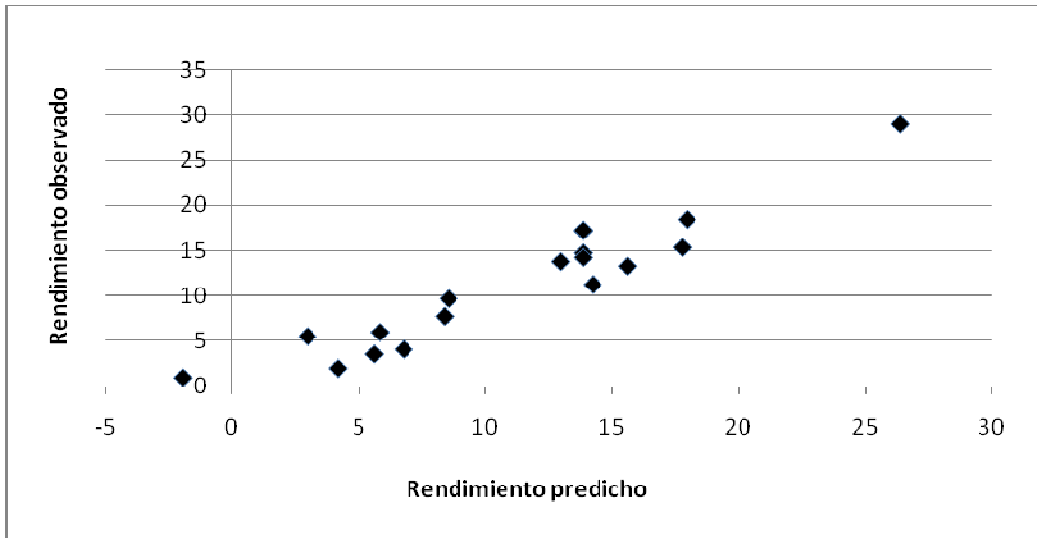
$$Y = 13.8419 + 0.624 X_1 + 4.883 X_2 + 5.58 X_3 - 0.245345 X_1^2 + 2.88375 X_1 X_2 + 0.79875 X_1 X_3 - 3.13084 X_2^2 + 2.60875 X_2 X_3 - 1.49034 X_3^2$$

Ecuación 13

La influencia de los factores sobre la respuesta se determina de acuerdo a la magnitud de los coeficientes de cada término. A partir de la ecuación 13 se puede establecer que la variable tiempo ( $X_3$ ) es la que presenta mayor influencia sobre el rendimiento de aceite extraído, esto ya que le corresponde el coeficiente mayor dentro de la ecuación polinomial, seguido de la variable presión ( $X_2$ ) que influye positivamente; mientras que a la temperatura ( $X_1$ ) le corresponde un coeficiente menor por lo que no influye sobre el rendimiento. La interacción de las variables temperatura ( $X_3$ ) y presión ( $X_2$ ) presenta mayor influencia que la interacción de la presión ( $X_2$ ) y tiempo ( $X_3$ ) y la interacción temperatura ( $X_1$ ) y el tiempo ( $X_3$ ).

El diseño experimental predice resultados para los tratamientos realizados a partir de la ecuación obtenida para la superficie. Se pueden comparar los resultados con las predicciones del modelo (**tabla 7**). En la **figura 10** se presenta la correlación entre el modelo y los datos obtenidos experimentalmente; si el modelo indica exactamente los mismos datos obtenidos experimentalmente entonces  $y = x$  y el valor de  $R^2$  será igual a 1. La ecuación que describe la figura 10 es la siguiente:  $y=1.0137x+0.0626$ ,  $R^2=0.9027$ . Se puede notar la variación de los datos por lo que el modelo no explica al 100% la variabilidad de datos experimentales, sin embargo el rendimiento observado presenta correlación con el rendimiento predicho de una manera positiva debido a que los datos previstos provienen del modelo realizado con los datos observados.





**Figura 10.** Comparación de los valores obtenidos para la extracción con los valores predichos por el modelo.

**Tabla 7.** Rendimiento de extracción SC-CO<sub>2</sub> predichos por el modelo

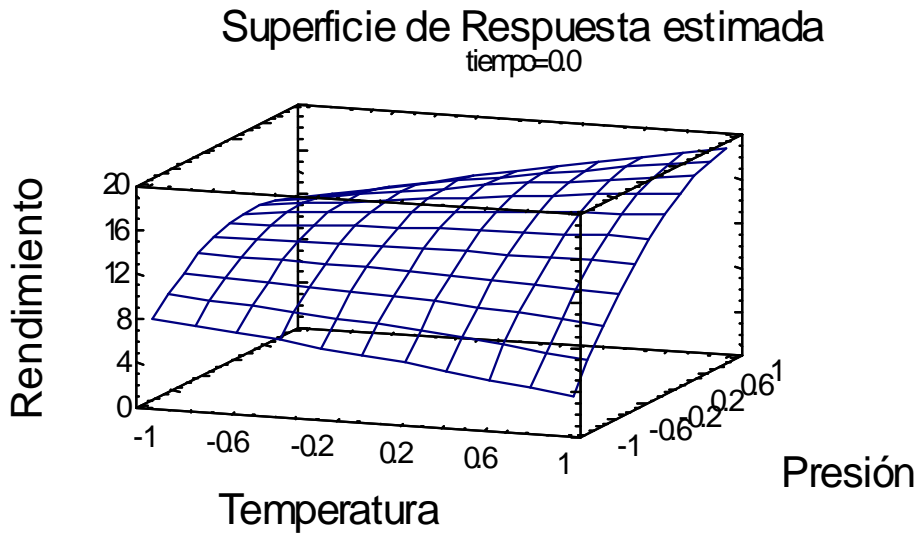
<b>Experimento</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Presión</b>	<b>tiempo</b>	<b>%Observado</b>	<b>%Predicho</b>
1	0	0	0	14.76	13.84
2	-1	-1	-1	1.99	4.17
3	1	-1	-1	0.97	-1.94
4	-1	1	-1	5.54	2.96
5	1	1	-1	7.75	8.37
6	-1	-1	1	9.69	8.53
7	1	-1	1	3.56	5.61
8	-1	1	1	15.37	17.75
9	1	1	1	29.08	26.36
10	-1	0	0	13.79	12.97
11	1	0	0	11.26	14.22
12	0	-1	0	5.99	5.83
13	0	1	0	13.29	15.59
14	0	0	-1	4.08	6.76
15	0	0	1	18.48	17.94
16	0	0	0	17.21	13.84
17	0	0	0	14.25	13.84
18	0	0	0	17.3	13.84

### 7.3.1 Superficie de respuesta

#### 7.3.1.1 Efecto de la presión y la temperatura sobre el rendimiento del aceite de chía.

La superficie obtenida al representar gráficamente la ecuación polinomial de segundo orden, manteniendo el tiempo ( $X_3$ ) constante en el punto central (150 min) es la presentada en la **figura 11** donde se puede visualizar el efecto de la presión sobre el rendimiento de extracción de aceite; es evidente que a mayores presiones se obtienen mayores rendimientos, ésto puede explicarse por el incremento de la densidad del  $\text{CO}_2$  cuando se aumenta la presión en el sistema, lo que resulta en una mayor solubilidad del analito en el  $\text{CO}_2$ .

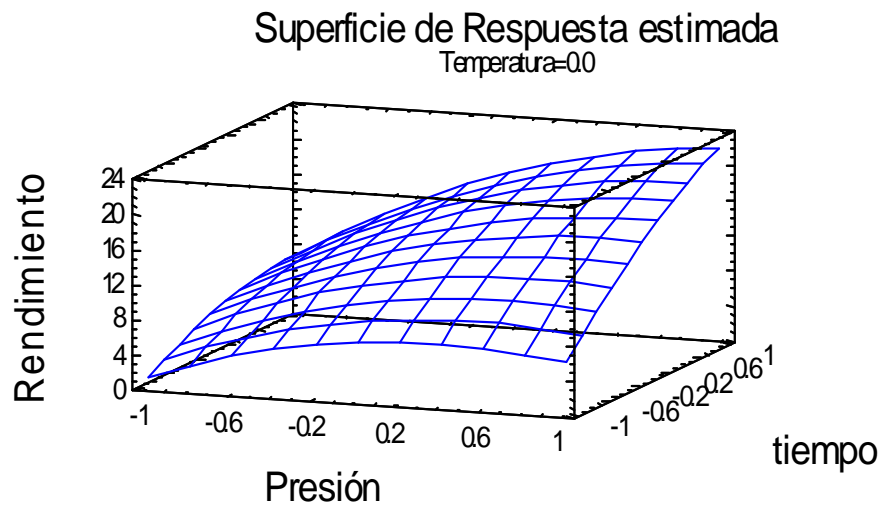
El efecto de la temperatura no es significativo en un 95% de confianza de acuerdo al análisis estadístico, sin embargo en la figura puede observarse una ligera disminución en el rendimiento en la zona de menores presiones cuando la temperatura aumenta, atribuido a que la densidad del  $\text{CO}_2$  disminuye al incrementar la temperatura, mientras que a mayores presiones el rendimiento mejora al elevar la temperatura; éste efecto de reversión en el rendimiento se conoce como *cross over* (Bozan, et.al., 2002).



**Figura 11.** Superficie de respuesta estimada manteniendo el parámetro tiempo constante en el punto central (150 min)

### 7.3.1.2 Efecto de la presión y el tiempo sobre el rendimiento del aceite de chía.

La **figura 12** representa la respuesta de los factores presión y tiempo al mantener el factor Temperatura en el punto central (60°C).



**Figura 12.** Superficie de respuesta estimada a temperatura constante (60°C).

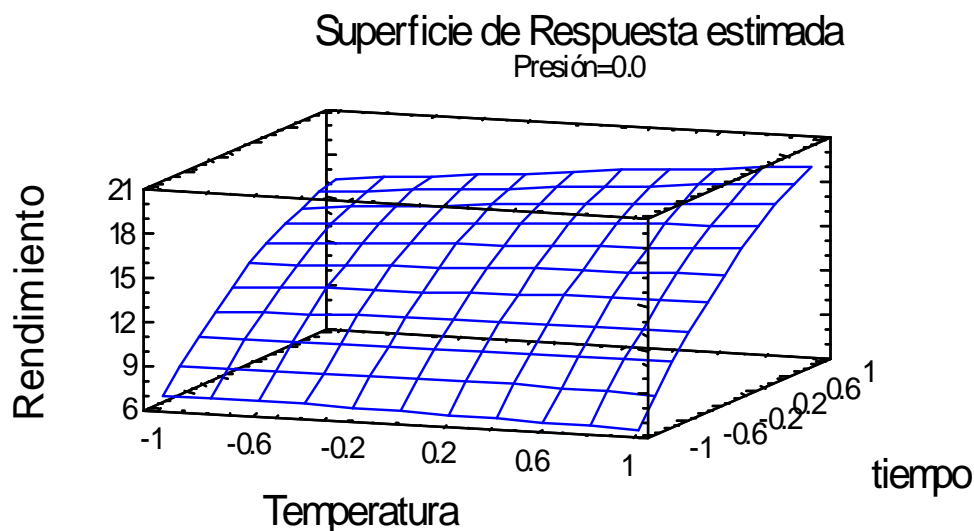
En la **figura 12** se observa claramente que el tiempo de extracción es un factor experimental importante ya que el rendimiento incrementa al prolongar el tiempo de extracción como ya se había explicado anteriormente al analizar la ecuación polinomial de segundo orden. Es de notar que el tiempo presenta una mayor influencia sobre el rendimiento que la presión, sin embargo ésta también influye de manera positiva, lo que coincide con lo que se observa en la figura 10 en donde el aumento de la presión implica un mayor rendimiento, lo que puede ser atribuido a que a mayores presiones la solubilidad de los solutos en CO<sub>2</sub> incrementa.

#### **7.3.1.3 Efecto del tiempo y temperatura sobre el rendimiento de extracción del aceite de chía.**

Manteniendo el factor presión constante a la condición central (350 bar), se puede observar el efecto de los factores temperatura y tiempo sobre el rendimiento del aceite de chía, lo que se presenta en la **figura 13** en la cual se puede observar que la temperatura (donde +1 indica 80°C y -1 40°C) no afecta el rendimiento de la extracción ya que permanece prácticamente constante, lo que ya se había mencionado en el análisis de la ecuación polinomial de segundo orden.

En esta figura se graficaron los factores con mayor y menor efecto sobre el rendimiento de acuerdo a la ecuación polinomial que describe la superficie de respuesta, en donde el mayor efecto corresponde al tiempo y el menor o nulo efecto a la temperatura; resulta evidente que el tiempo es la variable que ofrece mayor efecto sobre el rendimiento en la extracción. La temperatura no es un factor que influye en el rendimiento con un 95% de confianza, sin embargo es importante mantener la temperatura por encima del valor crítico para que el CO<sub>2</sub> se encuentre en las condiciones supercríticas.

En esta figura también es notable que a mayor tiempo el rendimiento incrementa.



**Figura 13.** Superficie de respuesta estimada a presión constante (350 bar).

En la **tabla 8** se indican las condiciones experimentales óptimas para la extracción scCO<sub>2</sub> del aceite de chía.

**Tabla 8.** Optimización del diseño

Factor	Inferior	Superior	Óptimo
Temperatura	-1	1	1
Presión	-1	1	1
Tiempo	-1	1	1

Se obtuvo un valor óptimo de 26.3591% para el contenido de aceite de chía, con extracción supercrítica, a las mejores condiciones experimentales de 80°C, 450 bar y 240 min.

Se realizó un análisis de varianza para el rendimiento de SFE. Se determinó que el factor temperatura no afecta en el rendimiento de extracción en un 95% de confianza.

El análisis también nos proporciona el valor de  $R^2$  el cual es igual a 91.0567% lo que indica que el modelo ajustado explica ese porcentaje de la variabilidad del rendimiento (error estándar de 3.49).

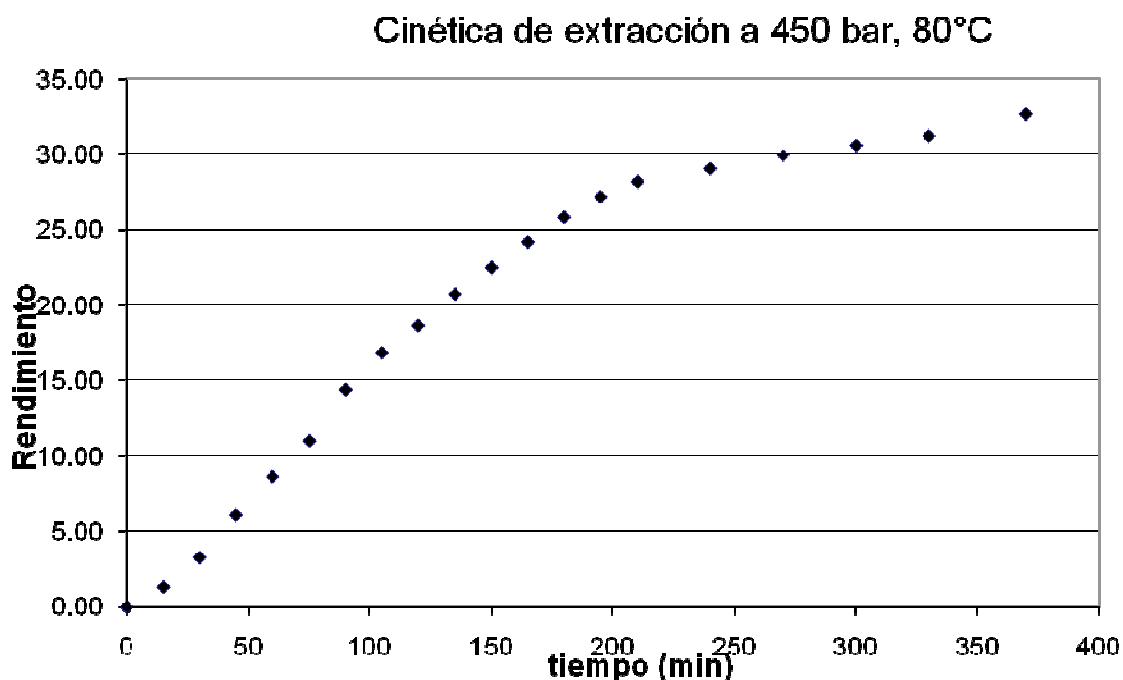
Al realizar el análisis estadístico se determinó que la variable tiempo (min), así como la variable presión (bar) presentan efecto significativo en el rendimiento de la extracción supercrítica del aceite de semilla de chía.

Es de esperarse que a una mayor presión (bar) el rendimiento también lo sea, debido a que a pesar de que a las diferentes condiciones de presión el  $\text{CO}_2$  se encuentra en estado supercrítico, la densidad del mismo no es igual en todas las condiciones ya que a mayores presiones el  $\text{CO}_2$  presenta mayor densidad; se ha estudiado el efecto de ésta sobre la solubilidad con los aceites y se encontró que a mayores densidades de  $\text{CO}_2$  la solubilidad aumenta (Taylor, 1996), es por esto que se obtiene un mejor rendimiento a mayores presiones, además de que el simple prensado de la semilla, aún sin la presencia de  $\text{CO}_2$ , permite la extracción de aceite de la semilla.

#### 7.4 Cinética de extracción

En las condiciones óptimas encontradas para el método de SFE se obtuvo la cinética descrita en la **figura 14** la cual corresponde al modelo cinético de primer orden por su comportamiento logarítmico, es decir que el rendimiento aumenta logarítmicamente con el tiempo.

Se realizó la cinética de extracción del aceite de la semilla de chía en las condiciones de 450 bar y 80°C hasta obtener el 32.68% <sub>b.s.</sub> de aceite (tomando como 100% la masa de harina utilizada en la extracción) a los 370 minutos.



**Figura 14.** Cinética de extracción para la condición óptima de presión y temperatura.

En las condiciones óptimas del experimento se obtuvo un valor de 26.3674%<sub>b.s.</sub> de aceite para la extracción según en modelo (450 bar, 80°C y 240 min); sin embargo, como se mostró en la cinética de extracción, es posible extraer el total del aceite prolongando el tiempo del experimento en un tiempo mayor a 350



minutos, manteniendo la presión y temperatura constantes en las condiciones óptimas de acuerdo al modelo.

## **7.5 Caracterización del aceite extraído**

### **7.5.1 Propiedades termo-reológicas**

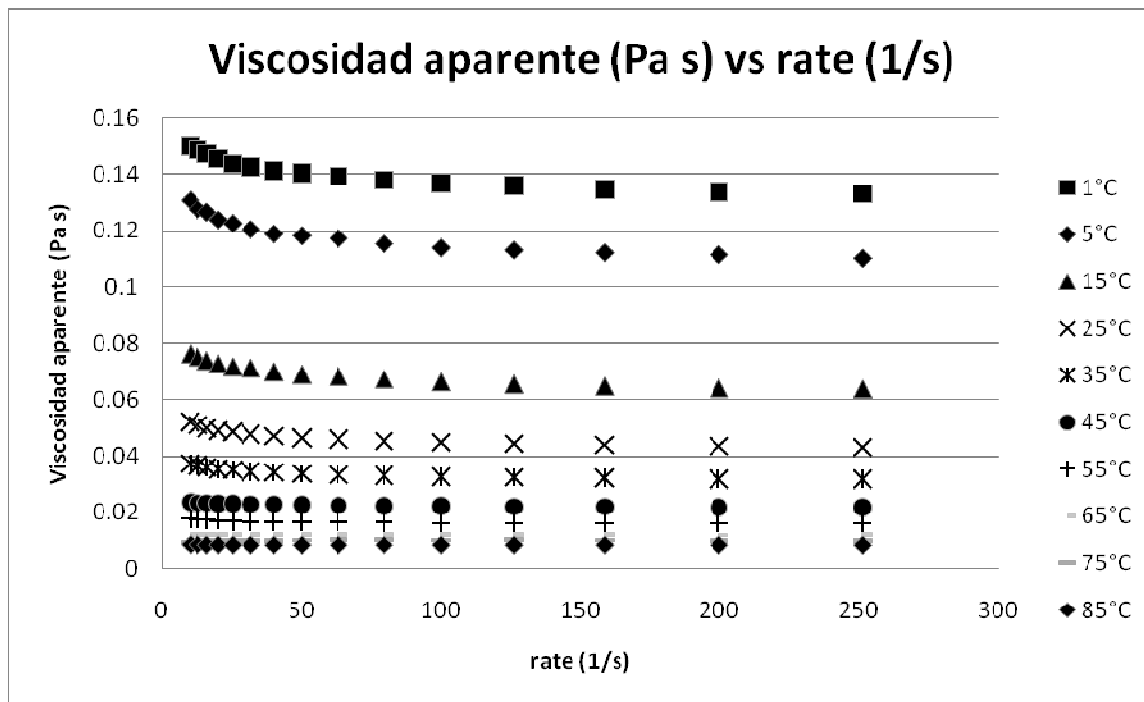
Se analizaron cada una de las muestras de aceite de chía extraídas para determinar su viscosidad y así la energía de activación de cada una; este valor indica la energía mínima que hay que superar para que el proceso de flujo pueda ocurrir.

Para determinar la energía de activación de cada aceite se utilizaron los datos obtenidos con el reómetro. Para realizar una serie de tratamientos de los datos que proporciona, se siguió el modelo de Arrhenius con el cual es posible a partir de la viscosidad, obtener la energía de activación.

Se analizaron cada una de las muestras a distintos valores de temperatura en el reómetro, siendo éstas 1°C, 5°C, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, 65°C, 75°C y 85°C.

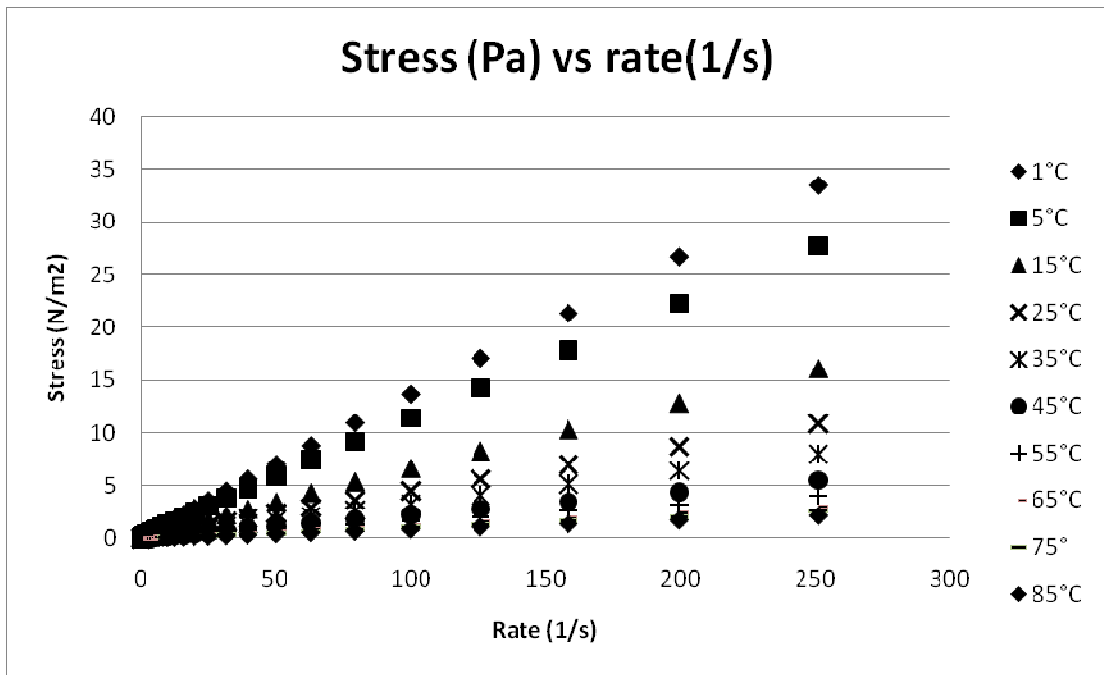
Se utilizaron placas paralelas en el estudio y un GAP de 0.5 mm, el cual es el espacio entre una placa y otra.

El reómetro proporciona los datos de *viscosidad aparente* (Pa s) y *Shear rate* (1/s) y con ellos es posible determinar la naturaleza del fluido, ya sea Newtoniano o no Newtoniano. Al obtenerse rectas con pendiente igual a cero se indica que el fluido estudiado es Newtoniano, tal como se muestra en la **figura 15**.



**Figura 15.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a las condiciones 450 bar, 80°C y 240 min.

Dentro de los datos que proporciona el reómetro están el esfuerzo cortante (*shear stress*) y la velocidad de corte (*shear rate*), a partir de los cuales al graficar “shear stress” (Pa) en función de “shear rate” (1/s), se obtiene el comportamiento que se muestra en la **figura 16**.



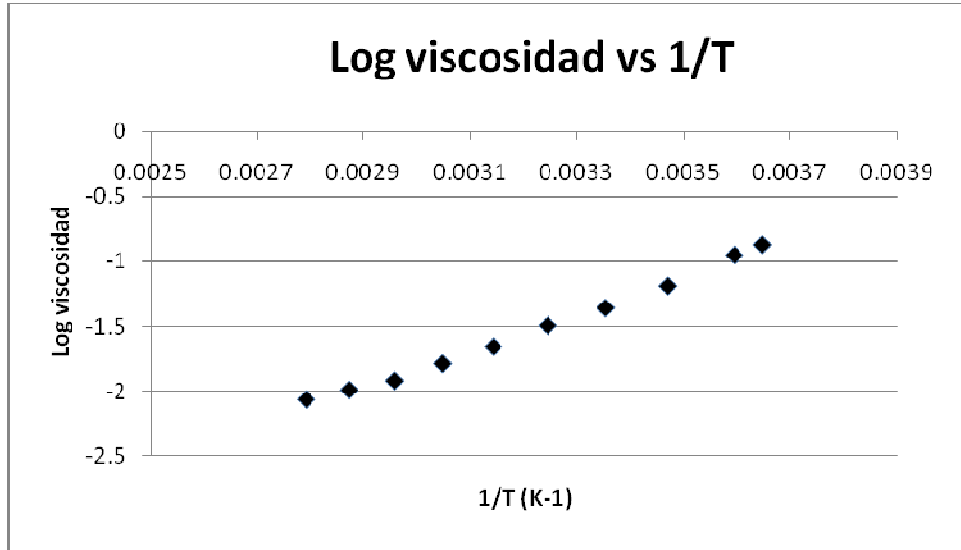
**Figura 16.** Gráfico Stress (Pa) contra rate (1/s) para las condiciones 450 bar, 80°C, 240 min.

Para cada una de las temperaturas (°C) se obtiene una ecuación de regresión lineal, cuya pendiente es la viscosidad del aceite a esa temperatura. Para el aceite obtenido con fluido supercrítico a 450 bar, 80°C y 240 minutos se obtuvieron las viscosidades mostradas en la **tabla 9**.

**Tabla 9. Viscosidad a cada temperatura para el aceite extraído a 450 bar, 80°C y 240 min.**

<b>Temperatura °C</b>	<b>Viscosidad (Ns/m<sup>2</sup>)</b>
1	0.1337
5	0.1112
15	0.0643
25	0.0435
35	0.0319
45	0.0219
55	0.0162
65	0.0120
75	0.0102
85	0.0086

Una vez obtenidos estos datos de viscosidad se graficó *log Viscosidad (Ns/m<sup>2</sup>)* en función de  $1/T$  en temperatura absoluta (K) y se obtuvo para cada muestra una gráfica del comportamiento de la **figura 17**.



**Figura 17.** Logaritmo de la viscosidad en función de 1/T para la muestra 450 bar, 80°C, 240 min.

A partir de la ecuación de regresión lineal de la gráfica de la **figura 17**, se obtuvo la pendiente de la misma y se calculó la energía de activación (cal/mol) como se muestra a continuación:

$$\text{pendiente} = 1416.8 \text{ K}$$

Siguiendo el modelo de Arrhenius con la ecuación  $\eta = K e^{-E_a/RT}$

A partir de la ecuación anterior y la gráfica de la **figura 17**, se expresa el valor de la pendiente como:

$$m = \frac{E_a}{2.303 R}$$

Donde R se refiere a la constante de los gases (1.987 cal/molK); se calcula así la energía de activación para cada muestra.

$$E_a = 2.303 * 1.987 \frac{\text{cal}}{\text{molK}} * m(K)$$

Ecuación 14

En la **tabla 10** se listan los valores de las energías de activación de los aceites extraídos a las diferentes condiciones de extracción scCO<sub>2</sub>.

**Tabla 10.** Energía de activación para cada muestra de aceite de Chía por extracción suercrítica con CO<sub>2</sub>.

<b>Temperatura</b>	<b>Presión</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Ea (cal/mol)</b>
-1	-1	-1	6604.05
-1	-1	1	5882.72
-1	1	-1	6445.33
-1	1	1	6176.31
1	-1	-1	7042.24
1	-1	1	6438.01
1	1	-1	6294.83
1	1	1	6483.36
-1	0	0	6284.76
1	0	0	6404.65
0	-1	0	6391.81
0	0	-1	6327.78
0	0	1	6130.09
0	0	0	6463.23

Todos los datos obtenidos mostraron un comportamiento Newtoniano y la Energía de activación promedio resultó de 6439.00 cal/mol con una desviación estándar de 337.21.

La energía de activación se refiere a la cantidad de energía mínima que hay que superar para que el proceso de flujo pueda ocurrir. A pesar de que se obtuvo un comportamiento Newtoniano para el aceite de semilla de chía, la energía de

activación (cal/mol) resultó mayor a la que se indica para otros aceites los cuales tienen un comportamiento pseudoplástico los cuales se listan en la **tabla 11**.

**Tabla 11.** Energías de activación para diferentes aceites vegetales (Wan, et al, 2005).

<b>Aceite</b>	<b>Ea(cal/mol)</b>
Semilla de girasol	5138.62333
Maíz	5473.23136
Canola	5640.53537
Coco	5783.93881

Se puede explicar este resultado tomando en cuenta que los datos presentados en la tabla 10 son para aceites refinados, mientras que el aceite de chía es virgen. En efecto ya que el extracto se analizó sin purificar, la composición de los aceites puede no ser representativa debido a que su diferente condición; además de que las propiedades reológicas de los aceites dependen de otros factores como la concentración, composición de ácidos grasos, sus propiedades químicas y la presencia de aditivos en los aceites.

## 7.5.2 Calidad del aceite

### 7.5.2.1 Acidez titulable e índice de peróxidos

Se determinó el porcentaje de acidez e índice de peróxidos del aceite obtenido por extracción supercrítica a las mejores condiciones de presión (bar) y temperatura (°C), así como a la muestra obtenida por extracción Soxhlet. Los resultados se muestran en la **tabla 12**.

El porcentaje de acidez de acuerdo a la AOAC se expresa como % de oléico.

**Tabla 12.** Caracterización del aceite obtenido a la condición óptima y por extracción Soxhlet.

Muestra	Índice de acidez	Desviación estándar	%Oleico	Desviación estándar	índice de peróxidos	Desviación estándar
450 bar, 80°C	0.81	0.16	0.41	0.08	0.61	0.028
Soxhlet	1.74	0.17	0.88	0.09	0.82	-

### 7.5.2.2 Índice de yodo e índice de saponificación

Se calculó este parámetro para cada muestra de acuerdo a la expresión:

Índice de yodo:  $0.86 (\%C:18:1) + 1.732 (\%C:18:2) + 2.616 (\%C:18:3)$

Se obtuvo un valor de índice de yodo de 202.9.

*Índice de saponificación (AOAC 1998)*

Para calcular el índice de saponificación se obtuvo previamente el peso molecular de acuerdo al perfil de ácidos grasos y se determinó el valor de índice de saponificación de 192.6 utilizando la ecuación 15.



$$\text{índice de saponificación} = \frac{3 * 56.1 * 1000}{(PM * 3) + 92.09 - (3 * 18)} \quad \text{ecuación 15.}$$

El índice de yodo se define como el peso de yodo que absorben 100 partes de la muestra en peso. El valor de yodo es una medida del grado de insaturación y es constante para cada grasa o aceite, ya que los glicéridos de los ácidos grasos se unen con una cantidad definida de halógeno. Al ser característico para cada aceite, es un parámetro de identificación.

Se obtuvo para el aceite de chía un valor de índice de yodo de 202.7 cuyo valor se encuentra por encima de los encontrados para otros aceites como el aceite de soya que tiene un valor de índice de yodo de 120-143, que varía dependiendo del método utilizado, esto indica que el aceite de chía tiene un contenido de ácidos grasos poliinsaturados superior a los estudiados previamente como los aceites de soya y oliva, cuyos perfiles de ácidos grasos indican valores de ácidos grasos poliinsaturados de 36% y 21% respectivamente (Kirk, et.al., 2005).

De acuerdo al valor de yodo obtenido puede clasificar al aceite de chía como un aceite secante ya que en esta clasificación entran aquellos aceites cuyo valor de yodo se encuentra entre 125 y 200, aunque rebasa este rango se encuentra cercano a éste (Kirk, 2005). Se llama secantes a los aceites que se oxidan y endurecen al exponerlos al aire.

El índice de saponificación indica el número de miligramos (mg) de hidróxido de potasio que se requieren para neutralizar los ácidos grasos que resultan de hidrolizar completamente una muestra de 1 g de aceite. El valor de saponificación es inversamente proporcional a la media de pesos moleculares de ácidos grasos en los glicéridos presentes, ya que los ésteres de ácidos grasos de peso molecular bajo requieren más álcali para saponificarse. Los valores de índice de saponificación son muy similares para muchos aceites por lo que no resulta una medida confiable para autenticar un tipo de aceite. El índice de saponificación del aceite de chía resultó de 192.6 mg KOH/g lo que indica que el peso molecular de los ácidos grasos presentes es relativamente alto comparado con otros aceites como el de babassu cuyo índice de saponificación va de 245-256 (Kirk, et.al.,

2005) y su perfil de ácidos grasos incluye de 40% a 55% de ácido laúrico y de 11% a 27% de ácido mirístico cuyos pesos moleculares son menores a los ácidos grasos contenidos mayoritariamente en el aceite de chía (linoléico y linolénico).

Se determinaron parámetros de la calidad del aceite, se comparó con el aceite extraído con el método Soxhlet y se obtuvieron los resultados presentados en la **tabla 13**.

**Tabla 13.** Características de calidad de los aceites

	<b>Aceite SC-CO<sub>2</sub></b>	<b>Soxhlet n-hexano</b>
<b>%Acidez</b>	0.81	1.74
<b>%Oleico</b>	0.41	0.88
<b>Índice de peróxidos</b>	0.61	0.82

Se consideran características de calidad de los aceites el % acidez y el índice de peróxidos ya que representan una medida de la oxidación por acción de lipasas y otros factores como presencia de oxígeno y luz respectivamente. La rancidez hidrolítica se manifiesta por la formación de ácidos grasos libres, por lo que los valores mayores de %Acidez indican actividad hidrolítica. De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que se obtiene un aceite de mayor calidad por el método de scCO<sub>2</sub> comparado con el método Soxhlet. El %acidez es mayor para el extracto obtenido por el método soxhlet lo que indica mayor actividad hidrolítica que en el extracto obtenido con SC-CO<sub>2</sub>, ésto puede deberse a las condiciones de extracción ya que la actividad de lipasas se acelera a altas temperaturas y presencia de luz y la extracción con soxhlet se realizó a mayor temperatura que las utilizadas para SC-CO<sub>2</sub> además de que ésta última se encuentra en ausencia de luz.

El % oléico indica el porcentaje de ácidos grasos libres y se calcula utilizando el % acidez dividido entre dos que es el factor de conversión correspondiente para el ácido oléico.

El índice de peróxidos es un parámetro que determina la rancidez oxidativa de los aceites, para ambas condiciones de extracción el resultado es menor a 10 mEq/kg, ya que se trata de aceites frescos por lo cual no se espera un valor muy alto de este parámetro debido a que la rancidez es notable después de algunas semanas de almacenamiento del aceite. Para que se note rancidez es necesario que presente un valor de peróxido mayor a 20 mEq/kg (Kirk, 2005).

### **7.6 Perfil de ácidos grasos por CG**

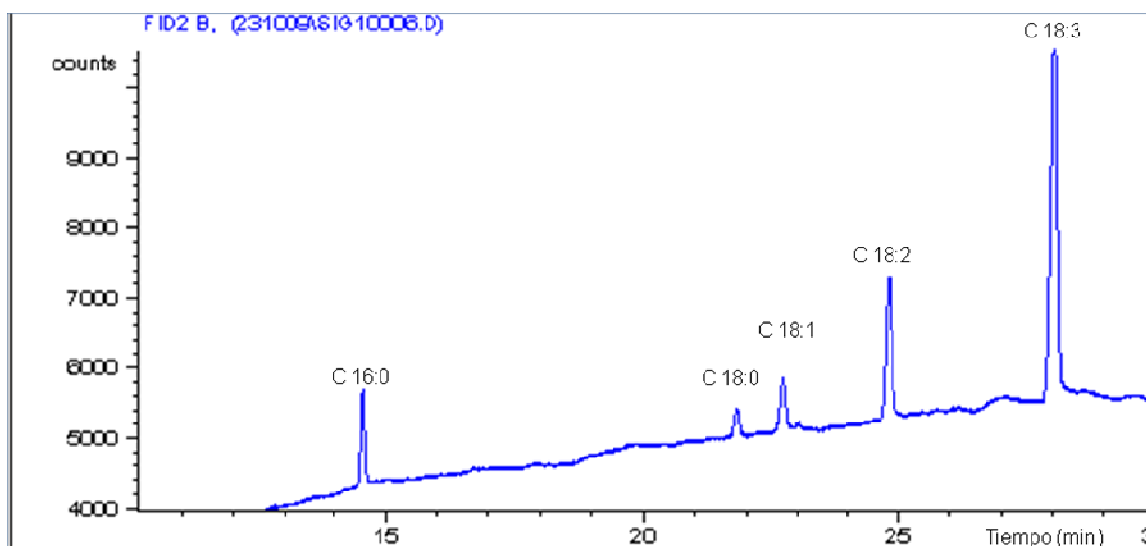
Para cada uno de los tratamientos se realizó un análisis de CG para analizar el efecto de las condiciones de extracción en el perfil de ácidos grasos. Los resultados se muestran en la **Tabla 14**.

Al analizar el perfil de ácidos grasos para la caracterización del aceite, es de notar que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) es muy alto lo que lo hace susceptible a la oxidación. En la **figura 18** se muestra el cromatograma que corresponde a la muestra extraída con sCO<sub>2</sub> a 450 bar, 40°C durante 240 minutos. La identificación de los ésteres metílicos contenidos en la semilla de chía se realizó a partir de la determinación de los tiempos de retención de cada uno de estos a partir de patrones de ácidos grasos que se saponificaron siguiendo el método ya mencionado, los cuales están representados en la **figura 19**.

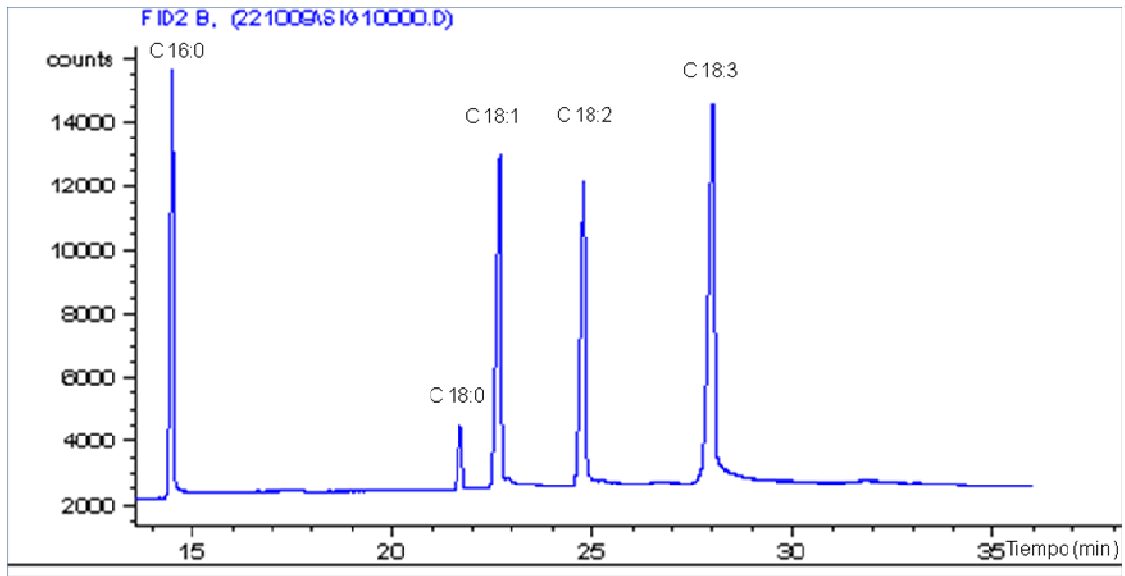
Se hizo un estudio estadístico en el cual se determinó la influencia de la presión, la temperatura y el tiempo de extracción sobre el perfil de ácidos grasos, la relación PUFA/SFA y la relación  $\Omega$ -6: $\Omega$ -3. Cuando se observan efectos significativos, el valor de *p* es igual o mayor a 0.05.

Se observaron efectos significativos en un 95% del tiempo de extracción en el contenido de ácido linoléico y linolénico además de la relación  $\Omega$ -6: $\Omega$ -3. A mayores

tiempos de extracción el contenido de ácido linolénico aumenta, mientras que el contenido de ácido linoléico es mayor en las extracciones de tiempos intermedios. Es de esperarse que el contenido de ácido linolénico sea mayor en las muestras obtenidas a mayores tiempos de extracción, ya que es el ácido graso más abundante en el aceite y por lo tanto se requiere de mayor tiempo para extraerlo completamente, mientras que en tiempos intermedios se obtiene más ácido linoléico debido a que al no extraerse completamente el ácido linolénico a estos tiempos, el ácido linoléico se encuentra en mayor proporción.



**Figura 18. Cromatograma de la muestra de aceite extraída por sCO<sub>2</sub>**



**Figura 19. Cromatograma de patrones de ésteres metílicos**

**Tabla 14.** Resultados de perfil de ácidos grasos de los extractos obtenidos por fluido supercrítico.

Temp.	Presión	Tiempo	%Relativo					PUFA/SFA	$\Omega 6:\Omega 3$
			C:16	C:18	C:18:1	C:18:2	C:18:3		
-1	-1	-1	11.17	3.08	11.37	20.63	53.74	6.01	0.38
-1	-1	1	11.51	4.10	6.58	20.97	56.84	5.40	0.37
-1	1	-1	10.66	2.55	7.53	20.01	59.25	6.57	0.34
-1	1	1	9.50	3.98	7.69	19.82	59.00	6.42	0.34
1	-1	-1	13.85	5.17	9.01	20.64	51.33	4.26	0.40
1	-1	1	10.36	5.31	5.53	21.83	56.96	5.38	0.38
1	1	-1	11.93	4.07	11.08	21.47	51.44	5.25	0.42
1	1	1	12.83	5.17	7.67	20.48	53.85	4.56	0.38
-1	0	0	7.46	13.02	5.27	29.87	44.38	3.88	0.67
1	0	0	13.65	3.90	10.88	22.03	49.54	4.70	0.44
0	-1	0	6.82	3.10	7.07	30.55	52.46	9.08	0.58
0	1	0	7.96	4.87	3.84	35.80	47.53	6.80	0.75
0	0	-1	11.60	4.15	7.78	20.60	55.86	5.35	0.37
0	0	1	9.17	3.26	5.13	20.32	62.11	7.04	0.33
0	0	0	9.66	4.37	6.60	20.19	59.18	6.13	0.34
0	0	0	13.51	4.49	6.81	21.81	53.38	4.56	0.41
0	0	0	9.80	4.30	6.40	20.90	58.60	6.09	0.36

Al determinar diferencia significativa en las condiciones de extracción, en la **tabla 15** se indica el promedio del perfil de ácidos grasos de aceite de chía obtenido a las condiciones de 450 bar, 80°C y 370 minutos.

**Tabla 15.** Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de chía extraído con SC-CO<sub>2</sub> a 450 bar, 80°C.

Ácido graso	%
Palmítico C:16:0	11.5 ± 2.4
Esteárico C:18:0	1.9 ± 0.5
Oléico C:18:1	4.1 ± 0.7
Linoléico C:18:2	20.9 ± 1.1
Linolénico C:18:3	62.3 ± 2.5

**Tabla 16.** Comparación de perfiles de ácidos grasos de los extractos de aceite de chía extraídos con SC-CO<sub>2</sub> y con Soxhlet.

	SC-CO <sub>2</sub> %	Soxhlet %
C:16	11.5 ± 2.4	9.2 ± 2.0
C:18	1.9 ± 0.5	2.9 ± 0.2
C:18:1	4.1 ± 0.7	6.9 ± 0.8
C:18:2	20.9 ± 1.1	19.6 ± 1.3
C:18:3	62.3 ± 2.5	61.3 ± 0.2

La comparación entre medias de los datos de la **tabla 16**, aplicando un análisis con la *t* de student a un nivel de confianza del 95%, muestra que no existe diferencia estadísticamente significativa en el perfil de ácidos grasos de ambas muestras.

La **tabla 17** resume algunas de las características del aceite de chia extraído con SC-CO<sub>2</sub>.

**Tabla 17.** Características del aceite de chía

<b>PUFA/SFA</b>	<b><math>\Omega</math>6:<math>\Omega</math>3</b>	<b>Índice de yodo</b>	<b>Índice de saponificación</b>
6.5	0.34	202.7	192.6



## **8. Extracción scCO<sub>2</sub> de la semilla de chía sin mucílago**

Se realizó la extracción scCO<sub>2</sub> de la semilla de chía sin mucílago para comparar el efecto y contenido de aceite entre los dos tratamientos, así como el perfil de ácidos grasos de éstas.

### **8.1 Mucílago**

Se cuantificó gravimétricamente el porcentaje de 10.74% para el mucílago de la semilla de chía.

### **8.2 Contenido de aceite**

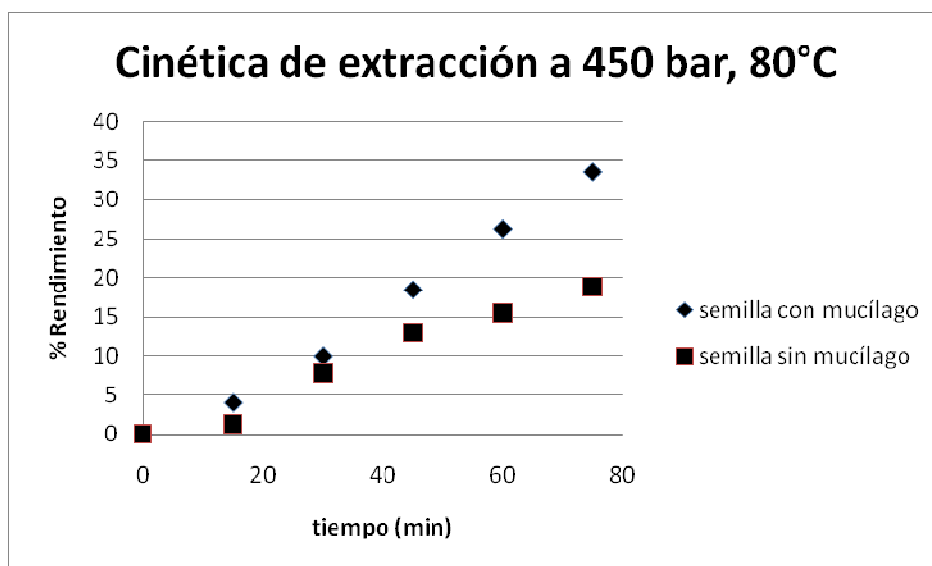
La determinación del contenido de aceite se realizó por el método Soxhlet con hexano, tomando este dato como el 100% de contenido de aceite en la semilla de chía sin mucílago. El contenido de aceite de en este tratamiento es de 29.8%<sub>b.s.</sub>.

### 8.3 Cinética de extracción scCO<sub>2</sub> con la semilla sin mucílago

Al realizar una comparación entre las cinéticas de extracción scCO<sub>2</sub> a 450 bar y 80°C realizadas de las muestras semilla con mucílago y semilla sin mucílago, se obtuvieron los resultados presentados en la **figura 20** e indicados en la **tabla 18**; en donde se representan los porcentajes de extracción relativos, ya que se tomó como el 100% los contenidos de aceite obtenidos por el método Soxhlet para las muestras de semilla con mucílago y sin mucílago 32.9%<sub>b.s.</sub> y 29.8%<sub>b.s.</sub> respectivamente. Se observa claramente que la extracción scCO<sub>2</sub> es mayor para el tratamiento de la semilla con mucílago ya que para el tiempo de 75 minutos se extrajeron 33.54% del aceite para la semilla con mucílago y 18.84% del aceite de la semilla sin mucílago por lo que no es necesaria la remoción de éste para obtener mejores resultados. La diferencia en los rendimientos obtenidos para las dos muestras puede deberse a la posible pérdida de material en el proceso de remoción de mucílago.

**Tabla 18.** Resultados de la cinética de extracción scCO<sub>2</sub> de las muestras de semilla de chía con mucílago y sin mucílago

tiempo (min)	%Rendimiento <sub>b.s.</sub>	
	semilla con mucílago	semilla sin mucílago
0	0	0
15	4.04	1.27
30	9.95	7.85
45	18.47	12.92
60	26.26	15.49
75	33.54	18.84



**Figura 20.** Cinética de extracción  $scCO_2$  para la muestra de semilla con mucílago y sin mucílago.

#### **8.4 Perfil de ácidos grasos de los extractos de aceite de la semilla sin mucílago.**

Se realizó la derivatización de las muestras obtenidas por el método Soxhlet y con  $scCO_2$  para cuantificar por medio de cromatografía de gases el perfil de ácidos grasos.

En la **tabla 19** se presenta el perfil de ácidos grasos correspondientes a las muestras de aceite de semilla de chía sin mucílago extraídas con Soxhlet-hexano y  $scCO_2$ . El perfil de ácidos grasos obtenido para el aceite de chía sin mucílago con soxhlet no es comparable con el obtenido para el aceite de la semilla con mucílago, atribuido a la posible pérdida del aceite que pudo ser arrastrada por el agua durante la liofilización de la semilla. Así mismo, el perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de chía sin mucílago obtenido con  $scCO_2$  no es comparable con el obtenido a las mismas condiciones pero con semilla con mucílago ya que éste se extrajo durante un mayor tiempo que para el caso del tratamiento sin mucílago,

y como ya se mencionó en este trabajo, el perfil de ácidos grasos está influido por el tiempo de extracción.

**Tabla 19. Perfil de ácidos grasos de las muestras de aceite de semilla de chía sin mucílago**

<b>Ácido graso</b>	<b>%Relativo</b>	
	<b>Soxhlet-hexano</b>	<b>scCO<sub>2</sub></b>
C 16:0	3.43	12.17
C 18:0	---	---
C 18:1	50.20	10.20
C 18:2	8.52	19.48
C 18:3	37.85	58.15

## 9. Conclusiones

La presión (bar) y el tiempo de extracción (min) tienen efectos positivos sobre el rendimiento de extracción, el rendimiento aumenta al incrementar los valores de éstas dos variables.

Se puede obtener el mismo rendimiento de extracción de aceite de chía con la extracción supercrítica scCO<sub>2</sub> (en las condiciones de extracción a 80°C y 450 bar durante 370 minutos) y con la extracción con Soxhlet.

El modelo matemático indica que en las condiciones óptimas de extracción con fluido supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) (450 bar y 240 minutos), se logra un rendimiento de 26.3667% <sub>b.s.</sub>

La temperatura no tiene efectos significativos en el rendimiento de extracción.

El porcentaje de ácidos linoléico y linolénico varía según el tiempo de extracción.

Los índices de acidez y de peróxidos del aceite obtenido a las condiciones óptimas con scCO<sub>2</sub> son más bajos a los del aceite extraído con hexano.

El aceite de chía presenta un comportamiento de fluido Newtoniano.

El aceite de chía tiene un alto porcentaje de ácidos grasos omega-3 (62.3%).

## 10. Bibliografía

Álvarez, L., 2004, *Identificación y cuantificación de compuestos nutraceuticos presentes en el aceite de la semilla de chía (Salvia hispanica)*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM

Álvarez, L., Valdivia, M., Aburto, M., Tecante, A., 2008, *Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (Salvia hispanica L.)*. Int. J. Food Prop., 11: 687-697.

AOCS. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 15th Edition, AOCS Press, Champaign, Illinois. (1998).

AOAC. Official methods of analysis. 15th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA. (1990).

Ayerza, R., 1995, *Oil content and fatty acid composition of chia (Salvia hispanica L.) from five northwestern locations in Argentina*, JAOCS, vol. 72, no. 9.

Ayerza, R., 2003, *Nutrientes de la harina de chia y su relación con los requerimientos humanos diario*, Office of Arid Lands Studies, The University of Arizona, Tucson, Arizona, USA.

Ayerza, R., Coates, W., 2001, *Chia seeds: new source of omega-3 fatty acids, natural antioxidants, and dietetic fiber*, Southwest Center for Natural Products Research & Commercialization, Office of Arid Lands Studies, Tucson, Arizona, USA, p.3.

Ayerza, R., Coates, W., 2004, *Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (Salvia hispanica L.) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America*, Trop.Sci. vol.44 (3) p.p. 131-135.

Ayerza, R., Coates, W., 2005, *Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat*, Nutrition Research 25 (11), p.p. 995-1003.

Badui, S., 1999, *Química de los alimentos*, Pearson educación, México.

Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B., Dahmani, A., 2009, *Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of Rosemary: Effect of extraction parameters and modelling*, The journal of supercritical fluids, 49.

Bozan, B., Temelli, F., 2002, *Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of flax seed*, JAOCS, 79.

Calvani, M., 2003, *Polyunsaturated fatty acids (PUFA)*, sigma-tau S.p.A. - Scientific Department.

Chicco, A., D'Alessandro, M., Hein, G., Oliva, M., Lombardo, Y., 2009, *Dietary chia seed (Salvia hispanica L.) rich in  $\alpha$ -linolenic acid improves adiposity and normalized hypertriglycerolaemia and insulin resistance in dyslipidemic rats*, British Journal of Nutrition.

Coates, W., Ayerza, R., 1996, *Production potential of chia in Northwestern Argentina*, Ind. Crops Prod. 5.

Coates, W., Ayerza, R., 1998, *Commercial production of chia in Northwestern Argentina*, JAOCS vol.75, no.10.

Fennema, O., 2000, *Química de los alimentos*, 2ª edición, editorial Acribia, Zaragoza, España.

Flores, C., 1938, *Estudio analítico de la Salvia hispánica (chia)*, tesis de licenciatura, facultad de química, UNAM, México, D.F.

García, I., 1995, *Biocatálisis en medios supercríticos*, trabajo monográfico de actualización, Facultad de Química, UNAM.

Gardner, H., 2002, *Lipid biotechnology*, Marcel Dekker, Inc., E.U.A.

Garlapati, Ch., Madras, G., 2010, *Solubilities of palmitic and steric fatty acids in supercritical carbon dioxide*, J. Chem. Thermodynamics 42, 193-197

Ghill, J., 2003, *Ethnobotany of chia, Salvia hispanica L. (Lamiaceae)*, Economic Botany 57(4), p.p. 604-618.

Harris, D., 2007, *Análisis químico cuantitativo*, 3ª edición, ed. Reverté, España.

Harris, W., 2001, *Omega-3 long chain PUFA and triglyceride lowering minimum effective intakes*, European haert journal supplements 3 (supplement D) d59-d61, E.U.

Heuer, B., Yaniv, Z., Ravina, I., 2002, *Effect of late salinization of chia (Salvia hispanica), stock (Matthiola tricuspidata) and evening primrose (Oenothera biennis) on their oil content and quality*, Ind. Crops Prod. 15.

Kirk, R., 2005, *Composición y análisis de alimentos de pearson*, CECSA, séptima reimpresión, México, p.p. 680, 691-699.



Kuei-Ying, L., James, D., 1994, *Structure of chia seed polysaccharide exudates*, Carbohydrate polymers no. 23, p.p.13-18.

Langa, E., Della, G., Palavra, A., Urieta, J., Mainar, A., 2009, *Supercritical fluid extraction of Spanish sage essential oil: Optimization of the process parameters and modelling*, The journal of supercritical fluids, 49.

Liu, G., Xu, X., Hao, Q., Gao, Y., 2009, *Supercritical CO<sub>2</sub> extraction optimization of pomegranate (Punica granatum L.) seed oil using response surface methodology*, Food science and technology 42.

Macías, D., Mantell, C., Rodriguez, M., Martinez E., 2009, *Kinetics of the supercritical fluid extraction of carotenoids from microalgae with CO<sub>2</sub> and ethanol as cosolvent*, Chemical Engineering journal 150.

Mason, R., 2003, *Statistical desing and analysis of experiments: with applications to engineering and science*, John Wiley and sons Inc, New Jersey, E.E.U.U.

Micallef, M., Garg, M., 2009, *Beyond blood lipids: phytosterol, strains and omega-3 polyunsaturated fatty acid therapy for hyperlipidemia*, Journal of Nutritional Biochemistry

Montgomery, D., 2004, *Diseño y análisis de experimentos*, 2<sup>a</sup> edición, ed. Limusa Wiley, México.

Peiretti, P., Gai, F., 2008, *Fatty acid nutritive quality of chia (Salvia hispanica L.) seeds and plant during growth*, Animal Feed Science and Technology, 148, p.p. 267-275.

Reyes, E., 2006, *La chía (Salvia hispanica): fuente de fibra dietética total con propiedades funcionales y antioxidantes*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM.

Reyes, E., Tecante, A., Valdivia, M., 2008, *Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds*, Food chemistry 107, 656-663.

Sanchez, Y., Cabañas, A., Renuncio, J., Pando, C., 2009, *Supercritical fluid extraction of peach (Prunus pérsica) seed oil using carbón dioxide and ethanol*, The journal of supercritical fluids, 49.

Shahidi, F., 2009, *Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods*, Food science and technology 20, 376-387.

Shih, F., Daugle, K., 2001, *Supercritical Fluid Extraction of Encapsulated Oil Products*, JAOCS vol. 78.

Singh, P., Heldman, D., 1998, *Introducción a la ingeniería de los alimentos*, Ed. Acribia, Zaragoza, España.

Steffe, J., 1992, *Rheological methods in food process engineering*, Freeman press, U.S.A.

Taylor, L., 1996, *Supercritical fluid extraction, Techniques in Analytical Chemistry*, John Wiley & sons, inc.

Thai, L., Mammucari, R., Truong, P., Foster, N., 2009, *Response surface method applied to supercritical carbon dioxide extraction of Vetiveria zizanioides essential oil*, Chemical engineering journal 155, 617-626.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22 (2009).

Vázquez, A., Rosado, G., Chel, L., Betancur, D., 2009, *Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (Salvia hispanica L.)*, Food science and Technology no.42, p.p.168-173.

Wan, W., Ani, F., Masjuki, H., Eng, S., 2005, *Rheology of bio-edible oils according to several rheological models and its potential as hydraulic fluid*, industrial crops and products 22, p.p. 249,255.

#### Consultas en internet

Fernández, C., Piñeiro, M., *Superficie de respuesta métodos y diseños*, <http://bellman.ciencias.uniovi.es>, consultada el 7 de octubre de 2009.

Figuroa, G., 2003, *Optimización de una superficie de respuesta utilizando JMP IN*, Mosaicos matemáticos no.11, Universidad de Sonora, <http://semana.mat.uson.mx>, consultado el 18 de octubre de 2009.  
<http://www.conanp.gob.mx>, consultado en julio de 2009.

[www.eatchia.com](http://www.eatchia.com) consultado el 29 de junio de 2009.

<http://www.bagkf.de/sofa/> SOFA-Federal Research Center for Nutrition and Food, 2006 seed oil fatty acid database consultado 26 de diciembre de 2009.

La imagen presentada en la figura 1 fue extraída de [www.orgonoproducts.com](http://www.orgonoproducts.com), consultado en enero de 2010.

La imagen presentada en la figura 2 fue extraída de [www.alamula.com](http://www.alamula.com), consultada en enero de 2010.

La imagen presentada en la figura 4 fue extraída de <http://scifun.chem.wisc.edu>, consultada en enero de 2010.

La imagen presentada en la figura 5 se extrajo de [http:// ram.meteored.com](http://ram.meteored.com), consultada en enero de 2010.

## 11. Anexo 1

### Tratamientos estadísticos

Tabla 20. Tabla ANOVA para el rendimiento de extracción supercrítica.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	grados de libertad	cuadrado medio	F	P
A:Temperatura	4.01956	1	4.01956	0.33	0.5869
B:Presión	238.437	1	238.437	19.54	0.0045
C:tiempo	311.922	1	311.922	25.56	0.0023
AA	0.198875	1	0.198875	0.02	0.9026
AB	66.5281	1	66.5281	5.45	0.0583
AC	5.10401	1	5.10401	0.42	0.5417
BB	25.4935	1	25.4935	2.09	0.1985
BC	54.4446	1	54.4446	4.46	0.0791
CC	5.69425	1	5.69425	0.47	0.5200
Error total	73.2203	6	12.2034		
total (corr.)		15			

**Tabla 21.** Valores de probabilidad (p) del análisis de la varianza del efecto de la Temperatura, Presión y tiempo de extracción con scCO<sub>2</sub> sobre la composición de ácidos grasos del aceite de chía.

H<sub>0</sub>:  $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7 = \mu_8 = \mu_9 = \mu_{10} = \mu_{11} = \mu_{12} = \mu_{13} = \mu_{14} = \mu_{15} = \mu_{16} = \mu_{17} = \mu_{18}$

H<sub>1</sub>:  $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7 \neq \mu_8 \neq \mu_9 \neq \mu_{10} \neq \mu_{11} \neq \mu_{12} \neq \mu_{13} \neq \mu_{14} \neq \mu_{15} \neq \mu_{16} \neq \mu_{17} \neq \mu_{18}$

	<b>Palmítico</b>	<b>Estéarico</b>	<b>Oléico</b>	<b>Linoléico</b>	<b>Linolénico</b>	<b>PUfA /SFA</b>	<b>Ω-6: Ω-3</b>
<b>Temperatura</b>	0.186	0.165	0.138	0.600	0.332	0.107	0.698
<b>Tiempo</b>	0.052	0.388	0.069	<b>0.038</b>	<b>0.044</b>	0.790	<b>0.044</b>
<b>Presión</b>	0.901	0.448	0.945	0.087	0.431	0.255	0.190

H<sub>0</sub> se rechaza en los casos donde el valor de p sea menor que 0.05 (α). Lo que implica que el tiempo afecta significativamente en un 95% de confianza el contenido de ácido linolénico y linoléico así como la relación (Ω-6:Ω-3).

**Tabla 22. Prueba t para el perfil de ácidos grasos de los extractos de aceite con fluido supercrítico y Soxhlet.**

	SFE/CO <sub>2</sub>					Soxhlet				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Media	11.5	1.9	4.1	20.9	62.3	9.2	2.9	6.8	19.6	61.3
Desviación estándar	2.18	0.10	0.21	0.81	3.19	2.015	0.219	0.766	1.283	0.253

$S^2_1/n_1$	2.77	0.15	0.26	0.61	3.18
$S^2_2/n_2$	2.03	0.02	0.29	0.82	0.03
$\sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	2.19	0.42	0.74	1.20	1.79
$t_t \sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	13.84	2.64	4.69	7.55	11.31
Dc	2.30	1.00	2.70	0.18	1.00

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$$

$$H_1: \mu_1 - \mu_2 > 0$$

$$t_t = 6.314$$

Al ser el valor de la t de tablas ( $t_t$ ) mayor a la diferencia calculada (Dc), se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) lo que implica que no hay diferencia estadísticamente significativa en los perfiles de ácidos grasos de los extractos SFE-CO<sub>2</sub> y Soxhlet con un 95% de confianza.

**Tabla 23. Prueba t para el contenido de humedad de los lotes de semilla de chía.**

	<b>lote 1</b>	<b>lote 2</b>
<b>Media</b>	6.338	7.41
<b>Desviación estándar (s)</b>	0.032	0.031
<b>Desviación estándar (s<sup>2</sup>)</b>	1x 10 <sup>-3</sup>	9 x 10 <sup>-4</sup>
<b>s<sup>2</sup>/n</b>	5 x 10 <sup>-4</sup>	4.8x10 <sup>-4</sup>
$\sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	0.0316	
<b>t<sub>t</sub></b> $\sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	0.092	
<b>Dc</b>	1.07	

**H<sub>0</sub>** se rechaza ya que la diferencia calculada es mayor al valor de la t de tablas lo que implica que el contenido de humedad de ambos lotes es diferente en un 95% de confianza.



**Tabla 24. Prueba t para el contenido de aceite extraído por Soxhlet de los lotes de semilla de chía.**

	<b>lote 1</b>	<b>lote 2</b>
<b>Media</b>	32.8	32.9
<b>Desviación estándar (s)</b>	0.908	1.98
<b>Desviación estándar (s<sup>2</sup>)</b>	0.824	3.91
<b>s<sup>2</sup>/n</b>	0.41	1.953
$\sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	1.54	
<b>t<sub>t</sub></b> $\sqrt{\left[\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right]}$	4.49	
<b>Dc</b>	0.1	

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$$

$$H_1: \mu_1 - \mu_2 > 0$$

$$t_t = 6.31$$

**H<sub>0</sub>** se acepta lo que implica que el no hay diferencia significativa en un 95% de confianza en el contenido de aceite de ambos lotes de semilla de chía.

## 12. Anexo 2

Gráficos obtenidos en el estudio reológico

Muestra extraída a las condiciones 250 bar, 40°C, 60 min.

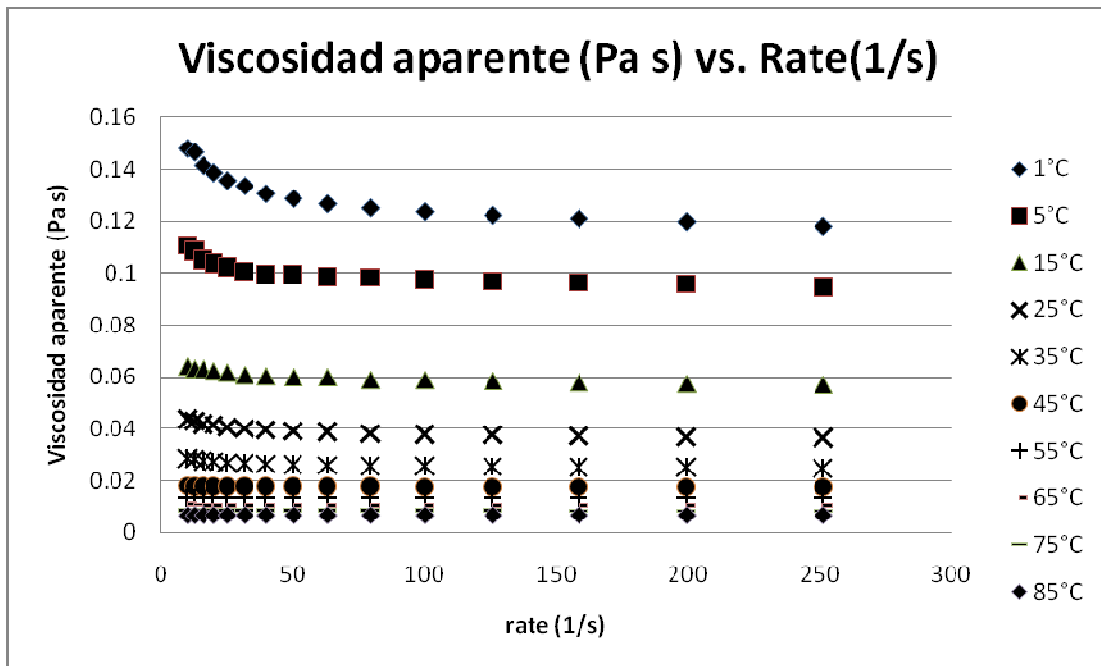
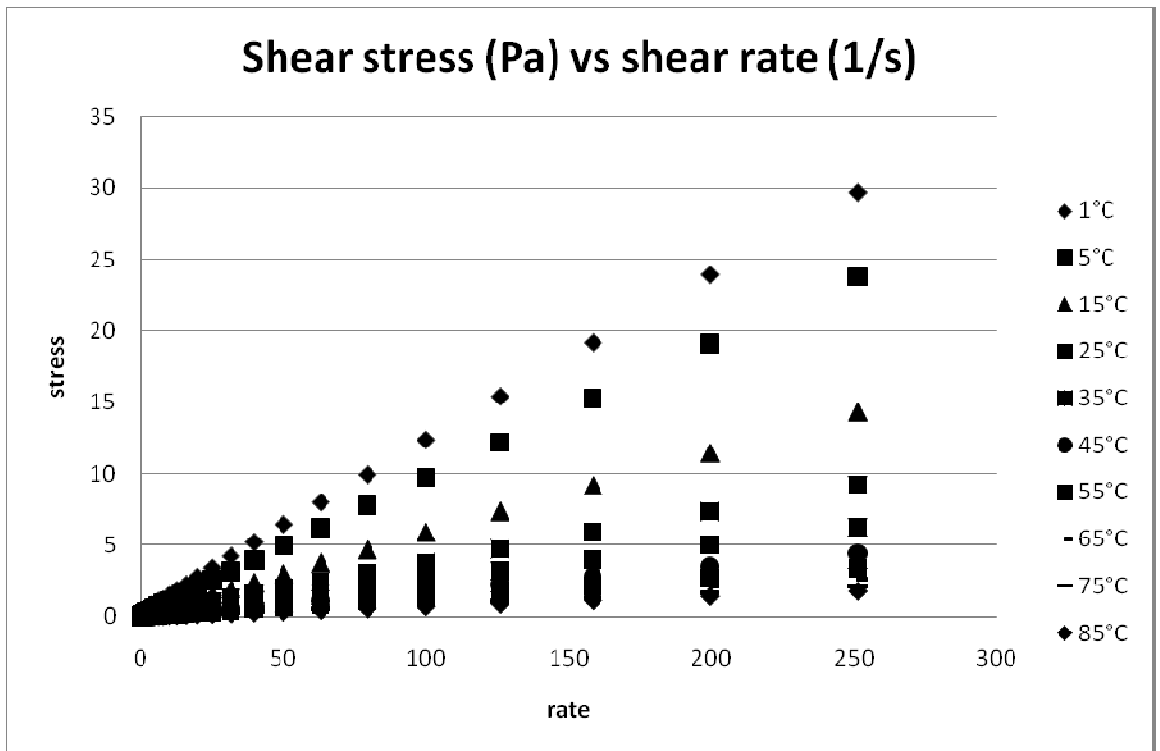
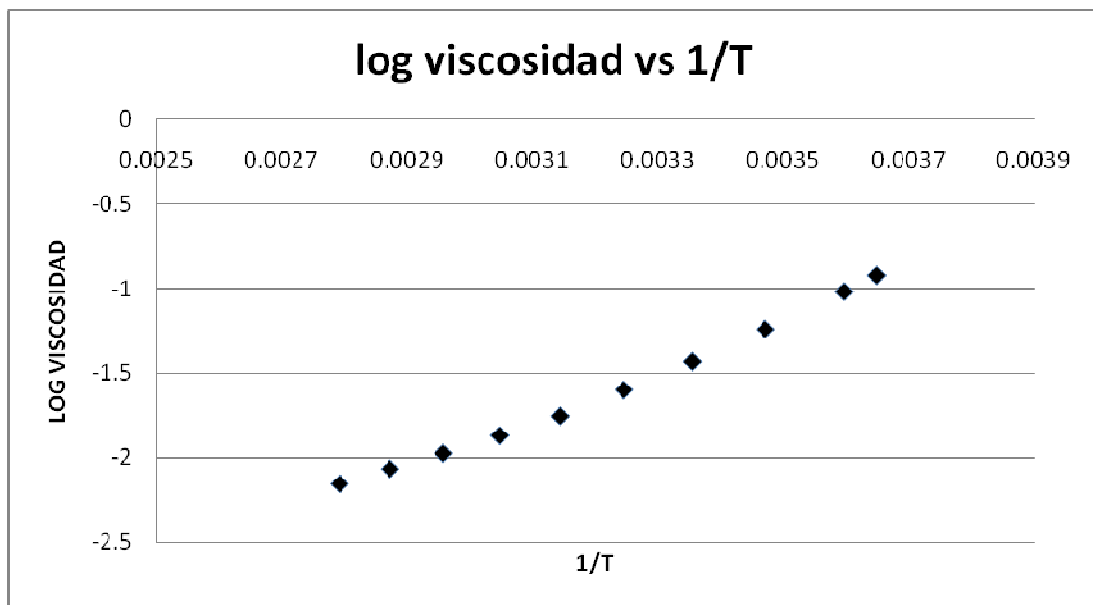


Figura 21. Gráfico de Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 40°C, 60 min.



**Figura 22** . Shear stress (Pa) vs shear rate (1/s) para el aceite extraído a las condiciones 250 bar, 40°C, 60 min.



**Figura 23** .log viscosidad vs 1/T(1/K) para la muestra extraída a las condiciones 250 bar, 40°C, 60 min.

Muestra extraída a las condiciones 250 bar, 40°C, 240 min.

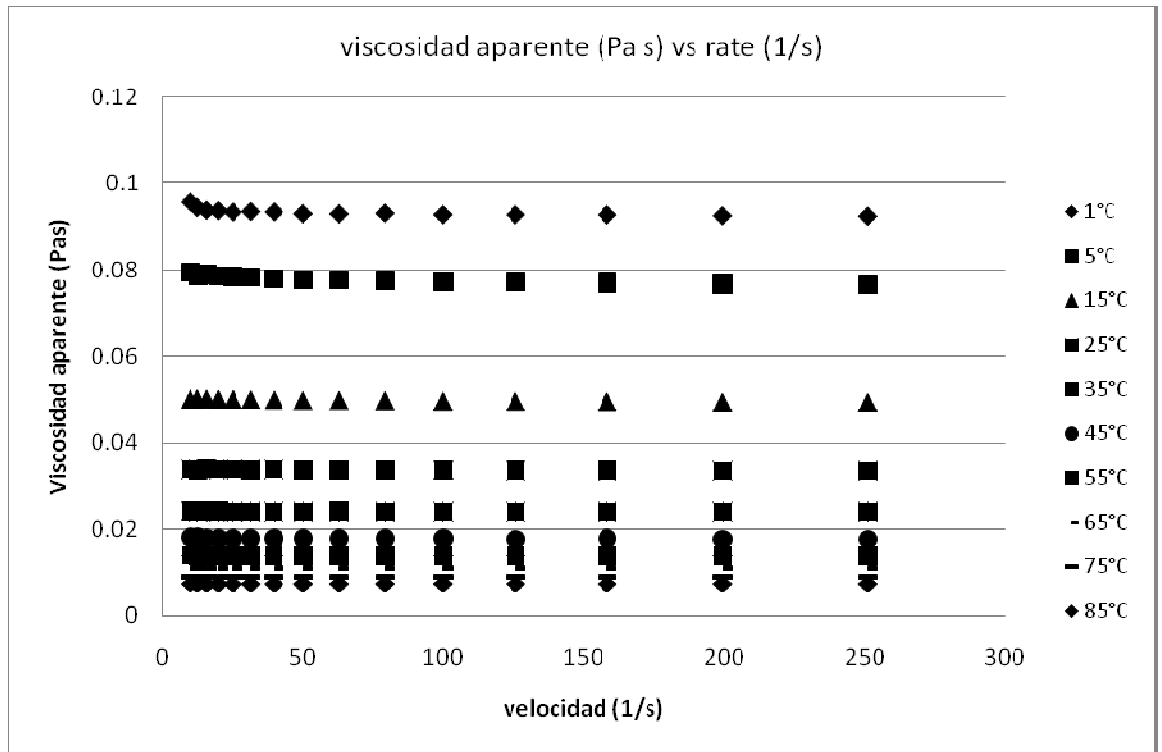
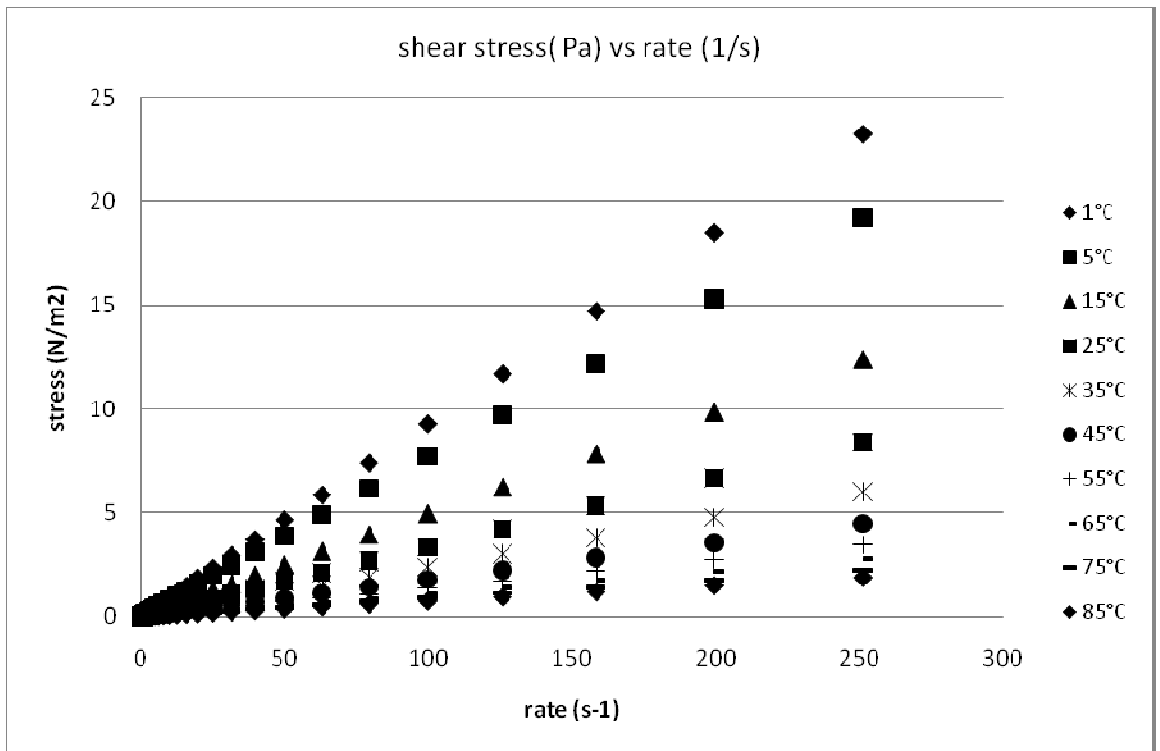
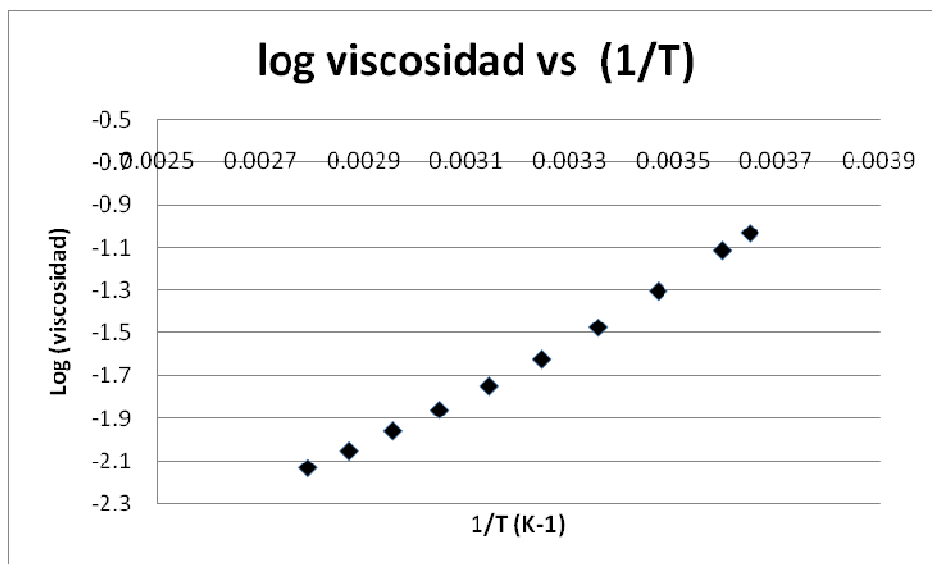


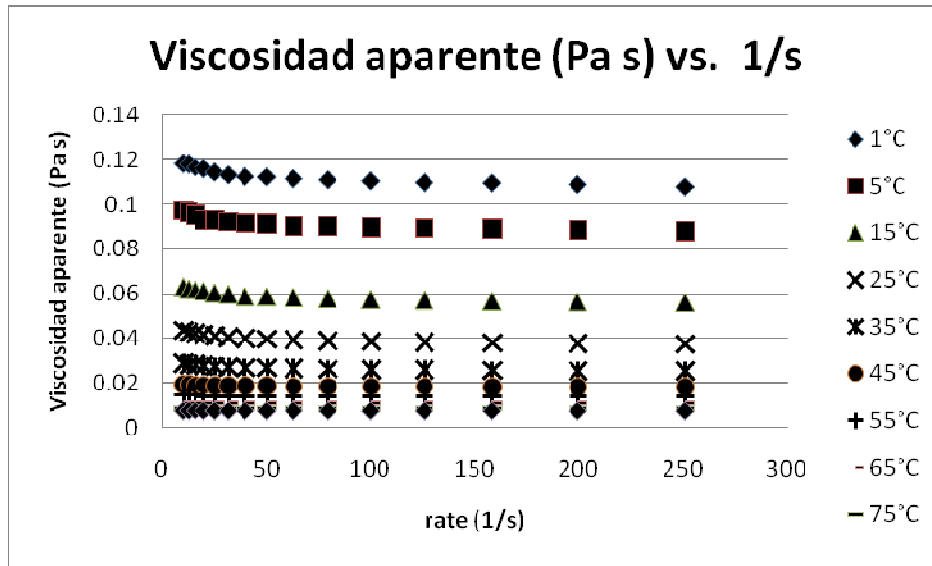
Figura 24 .Gráfico de viscosidad aparente (Pa s) vs rate(1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 40 °C, 240 min.



**Figura 25.**Gráfico de shear stress (Pa) vs rate(1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 40 °C, 240 min.

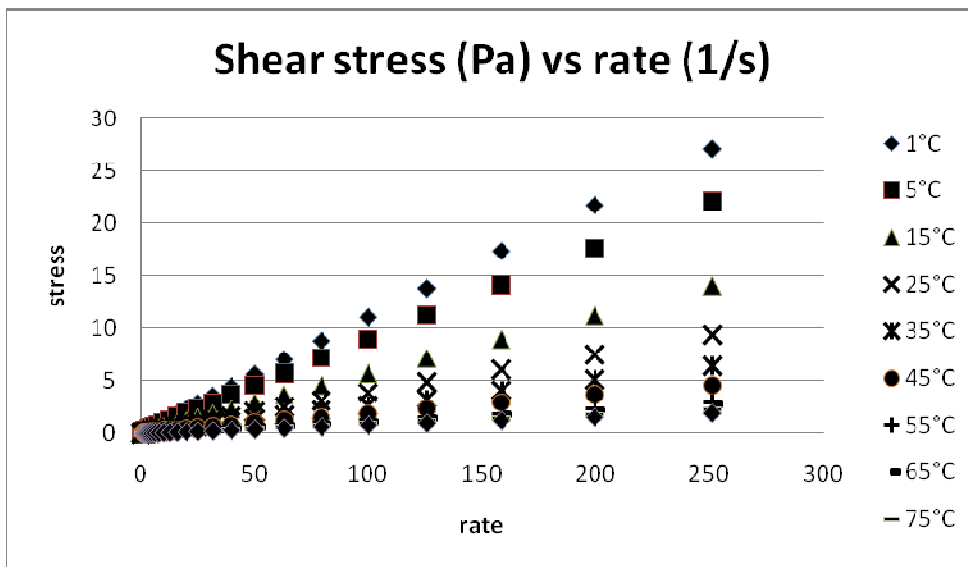


**Figura 26.**Gráfico de log viscosidad vs 1/T(1/K) para el aceite extraído a 250 bar, 40 °C, 240 min.

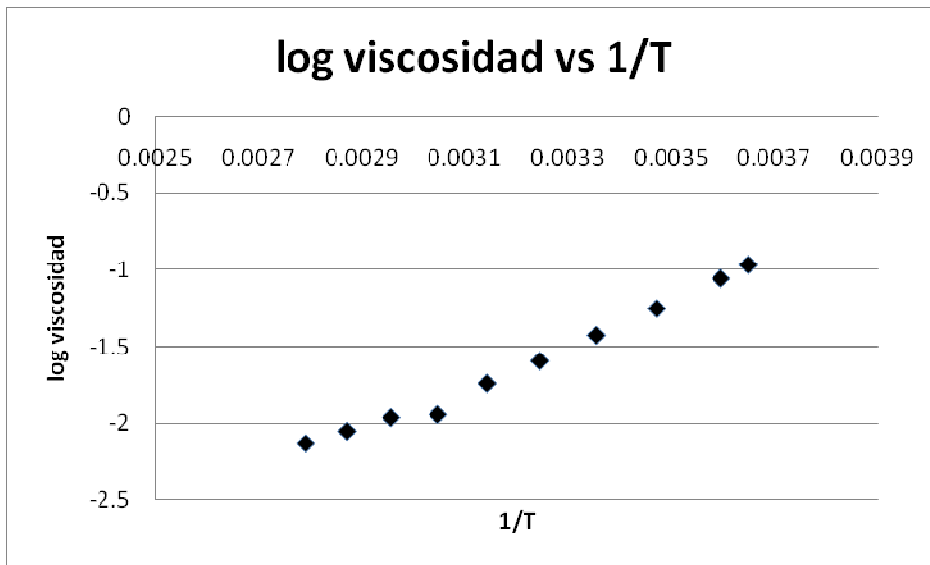


Muestra extraída a las condiciones 250 bar, 60°C, 150 min.

**Figura 27.**Gráfico de viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 60°C, 150 min.

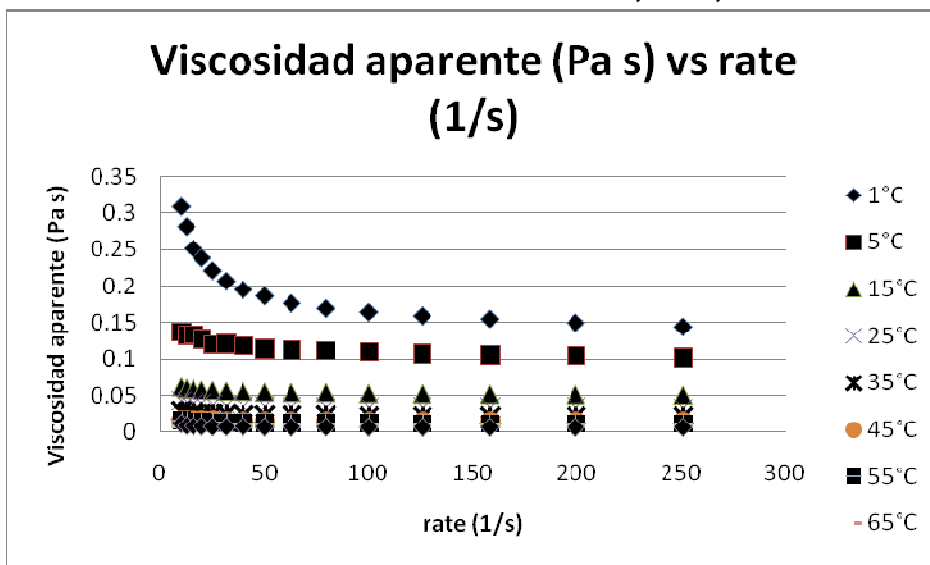


**Figura 28.**Gráfico de Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 60°C, 150 min.

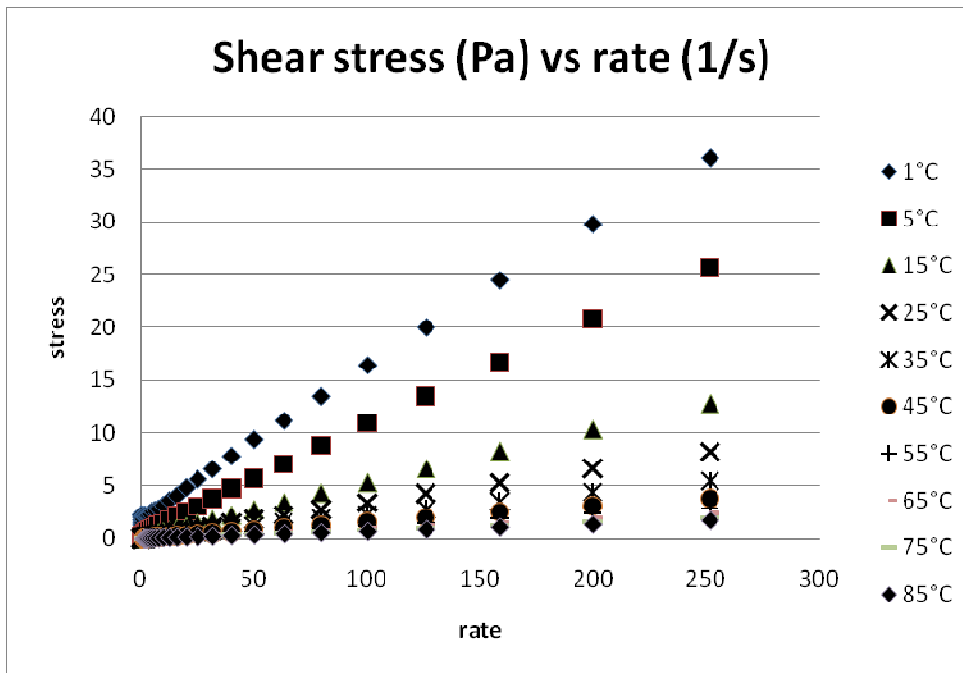


**Figura 29** . Gráfico de log de la viscosidad vs 1/T (1/K) para el aceite extraído a 250 bar, 60°C, 150 min.

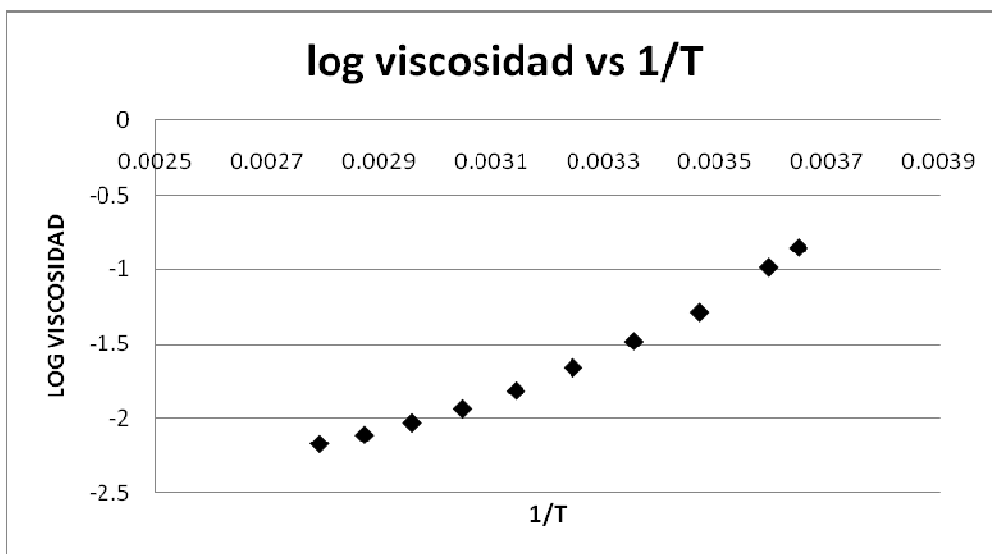
**Muestra extraída a las condiciones 250 bar, 80°C, 60 min.**



**Figura 30.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 80°C, 60 min.



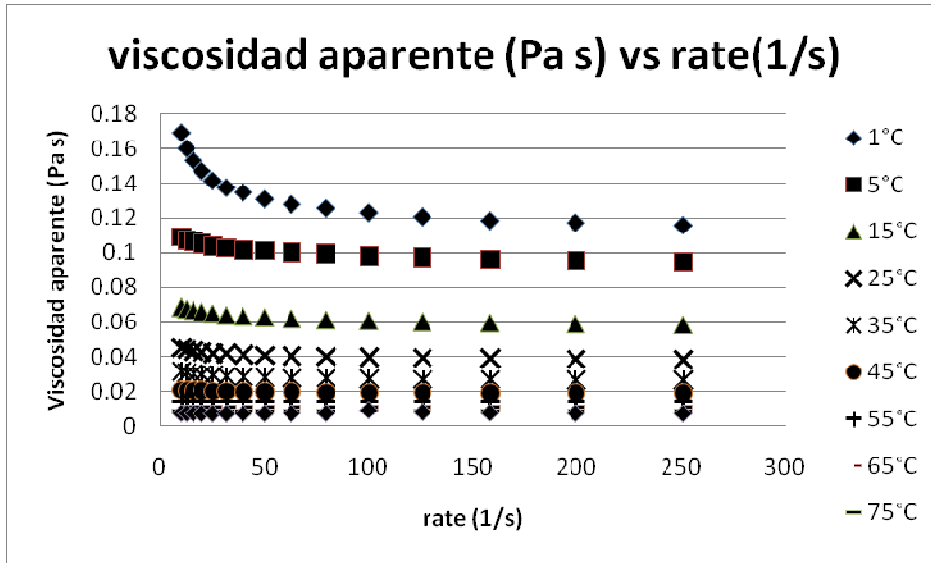
**Figura 31.** Shear stress (Pa) vs rate(1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 80°C, 60 min.



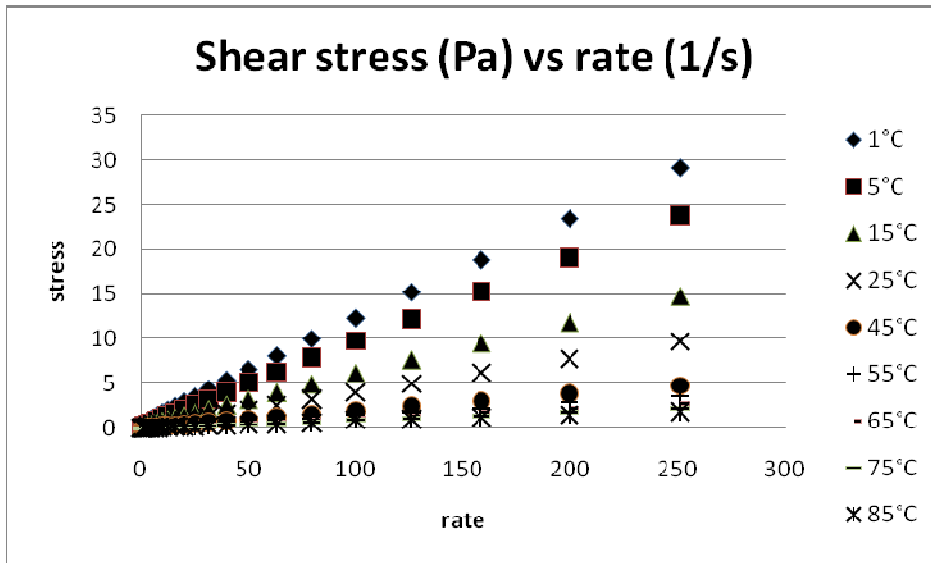
**Figura 32.** Log viscosidad vs 1/T (K<sup>-1</sup>) para el aceite extraído a 250 bar, 80°C, 60 min.



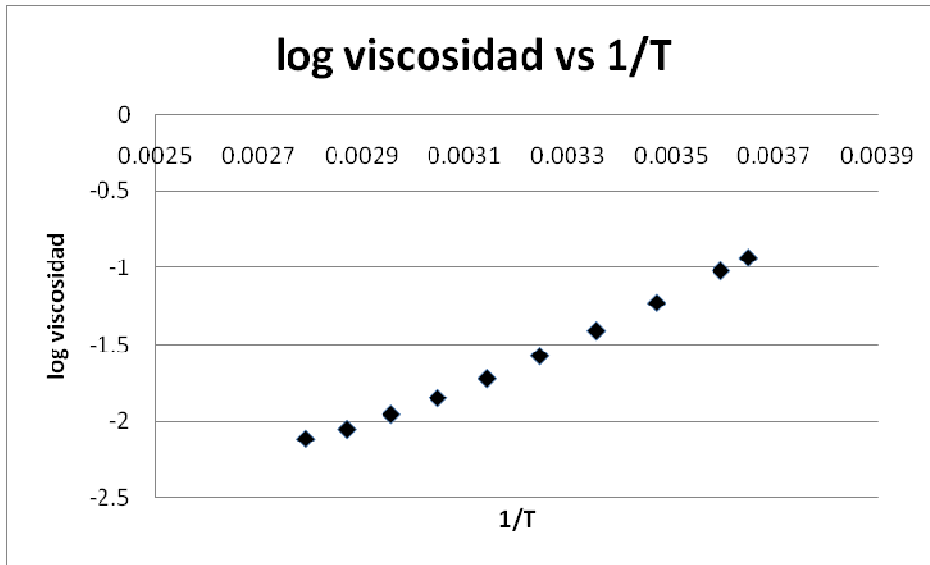
Muestra extraída a las condiciones 250 bar, 80°C, 2 40 min.



**Figura 33.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a las condiciones 250 bar, 80°C, 240 min.

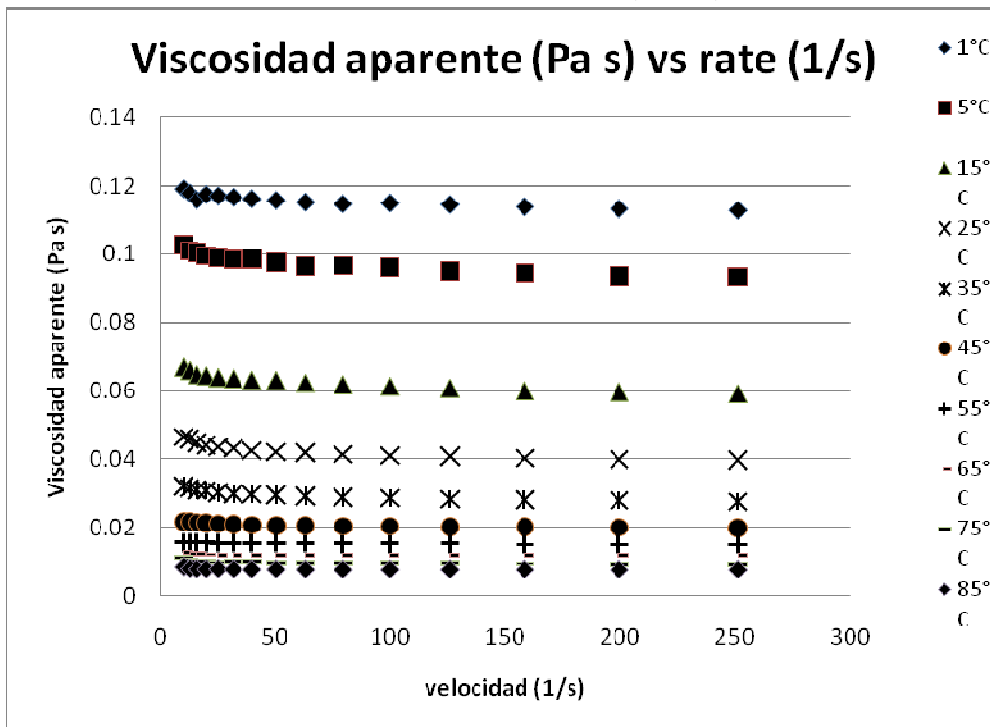


**Figura 34.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 250 bar, 80°C, 240 min.

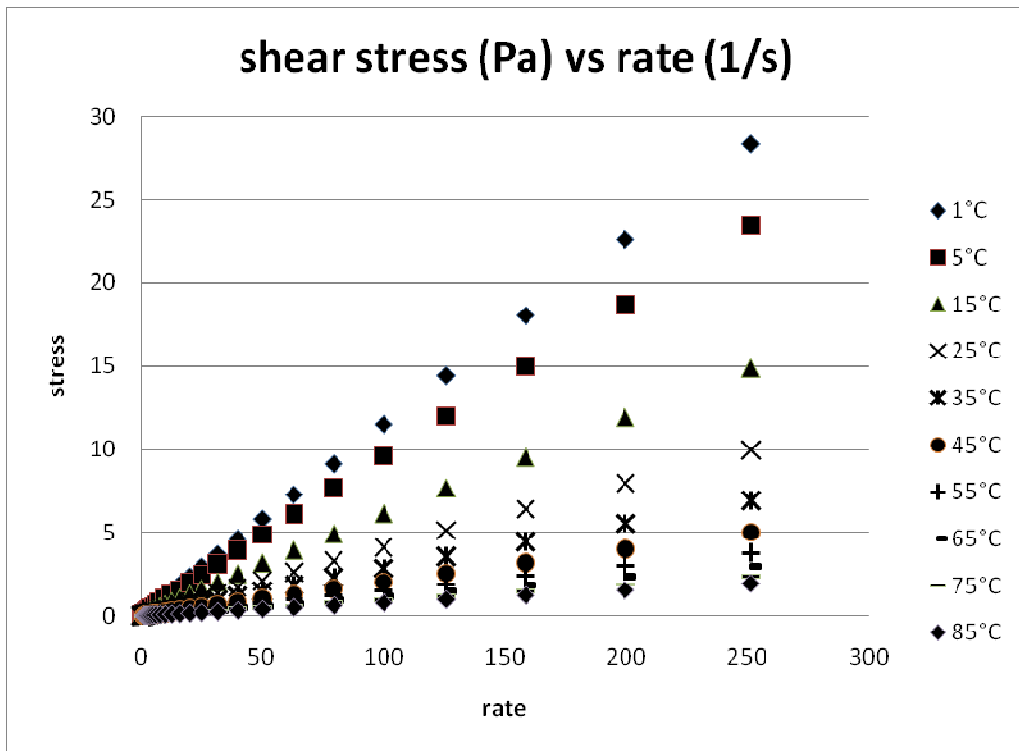


**Figura 35.** Log viscosidad vs 1/T (K<sup>-1</sup>) para el aceite extraído a 250 bar, 80°C, 240 min.

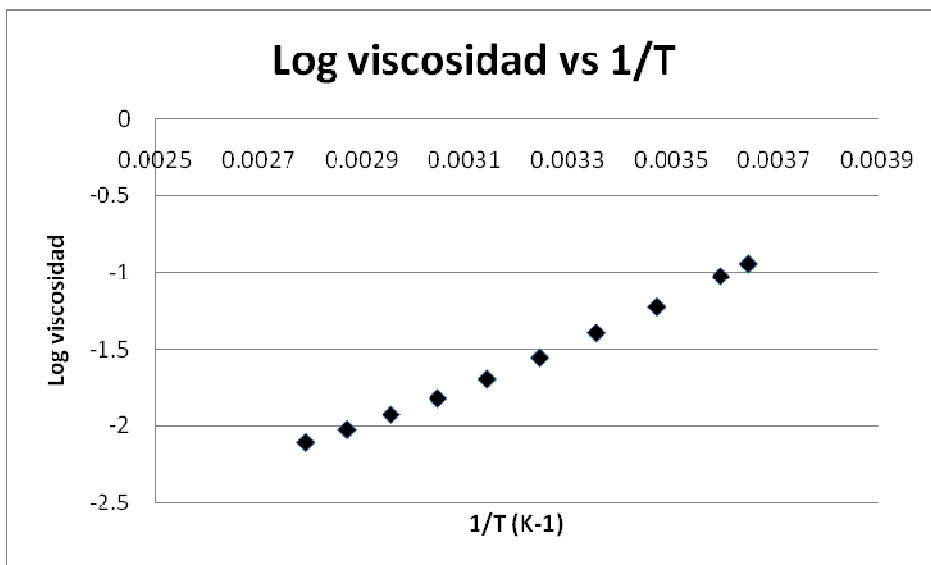
**Muestra extraída a las condiciones 350 bar, 40°C, 1 50 min.**



**Figura 36.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 40°C, 150 min.

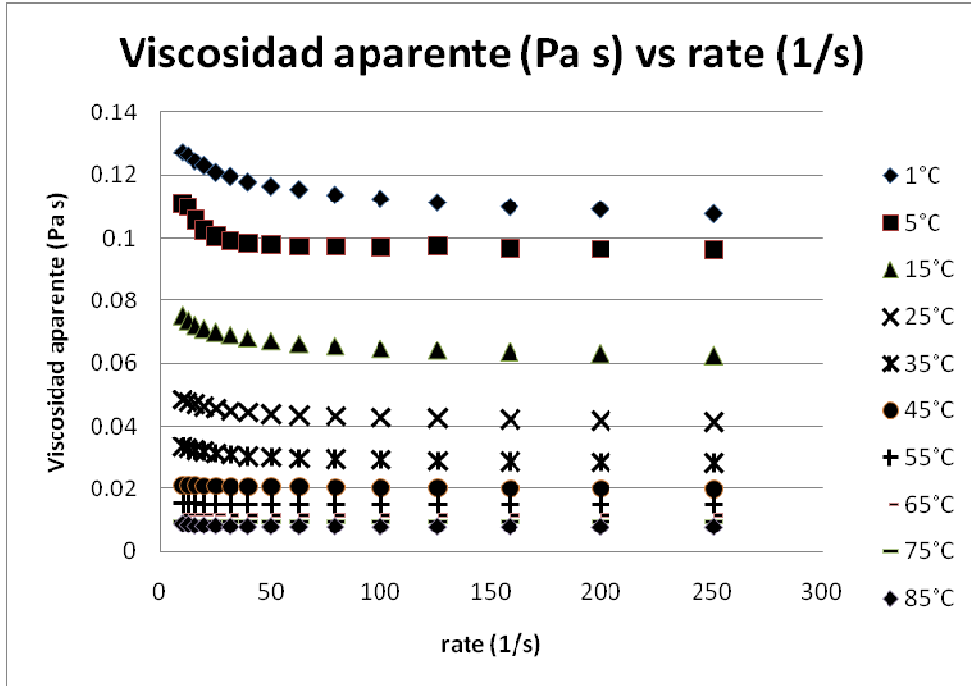


**Figura 37** . Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 40°C, 150 min.

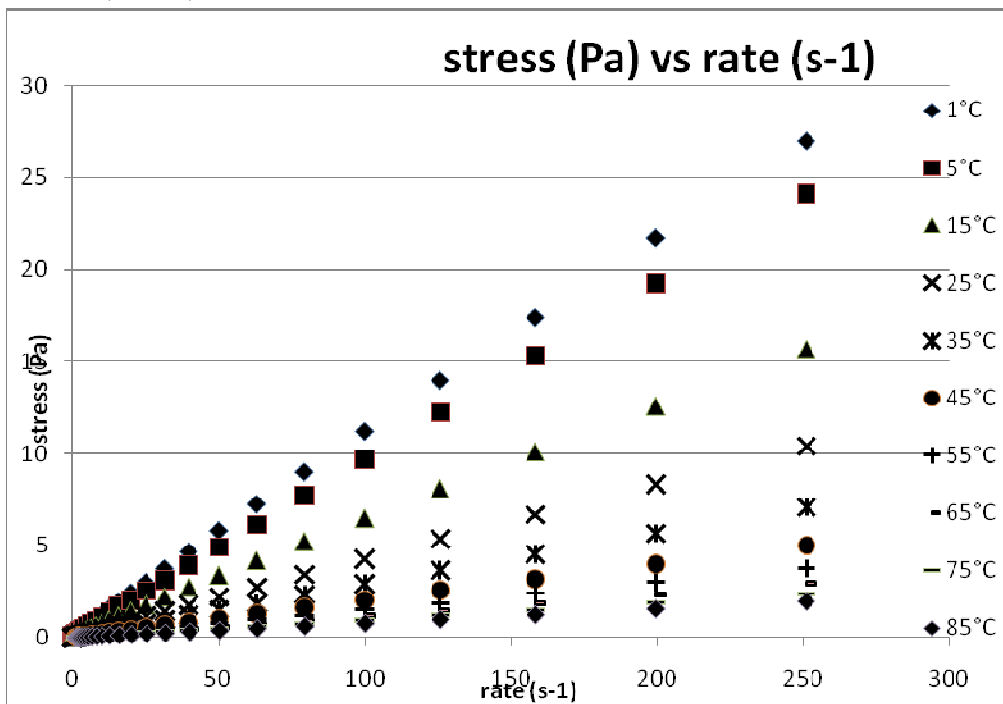


**Figura 38**. Log viscosidad vs 1/T ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 350 bar, 40°C, 150 min.

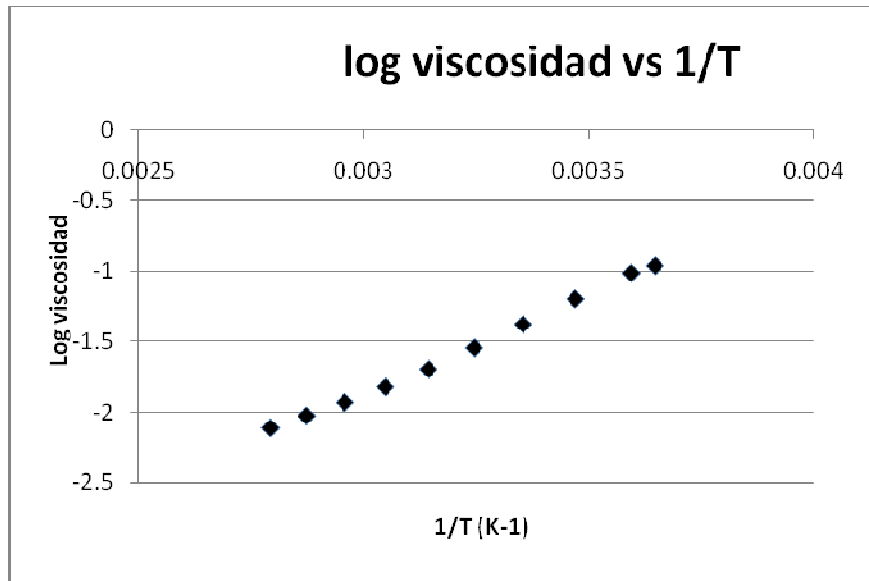
Muestra extraída a las condiciones 350 bar, 60°C, 60 min.



**Figura 39.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 60 min.

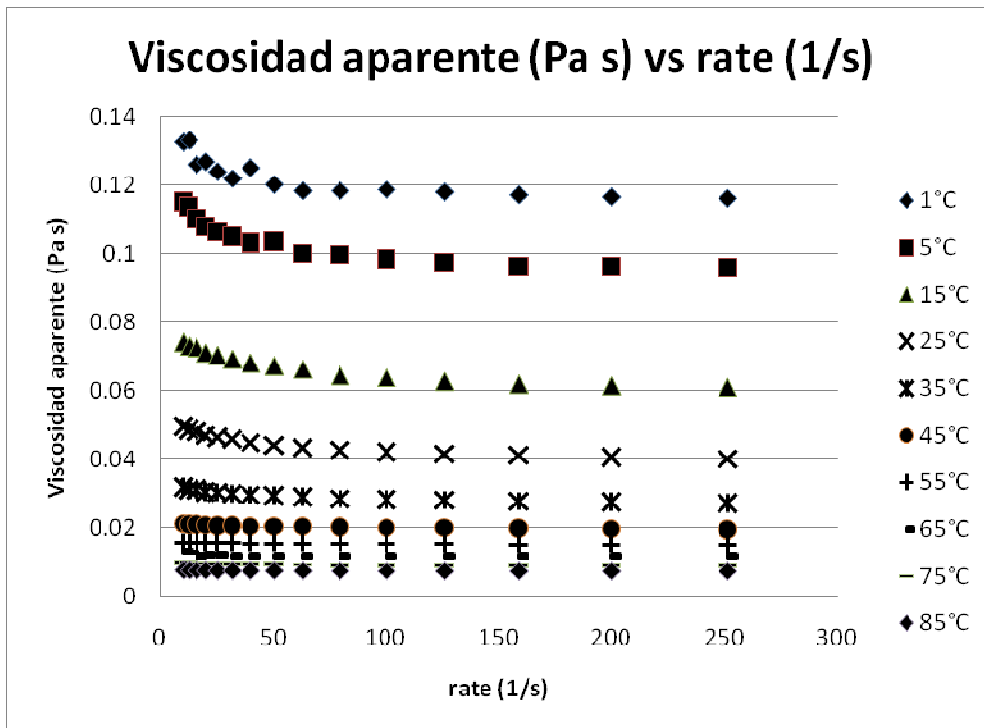


**Figura 40.** Shear stress ( Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 60 min.

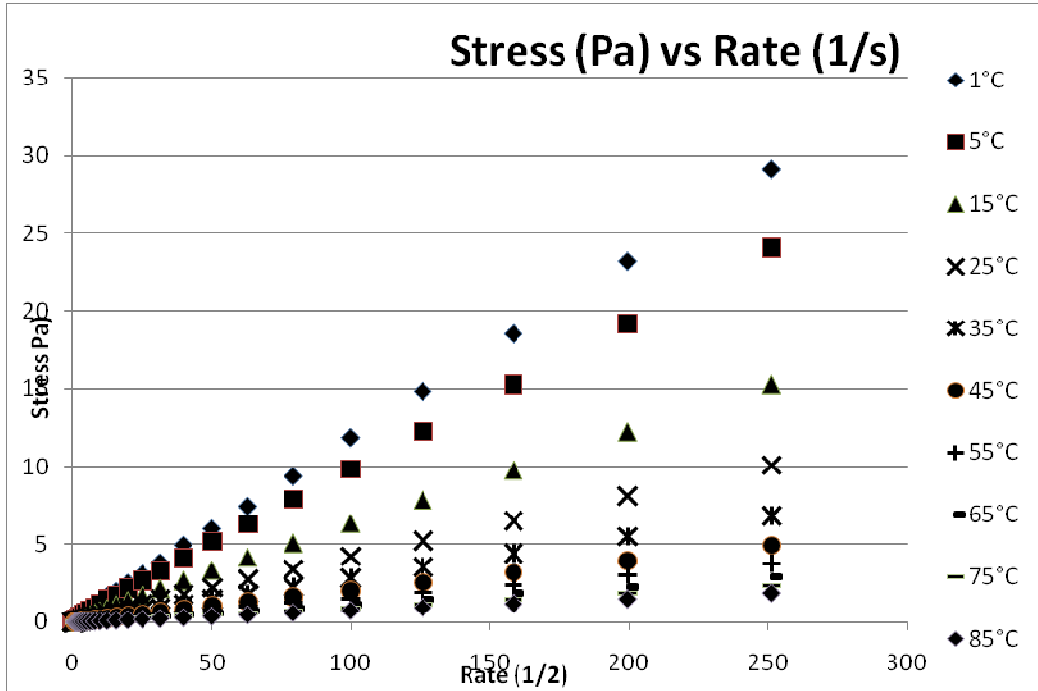


**Figura 41.** Log viscosidad vs 1/T (K<sup>-1</sup>) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 60 min.

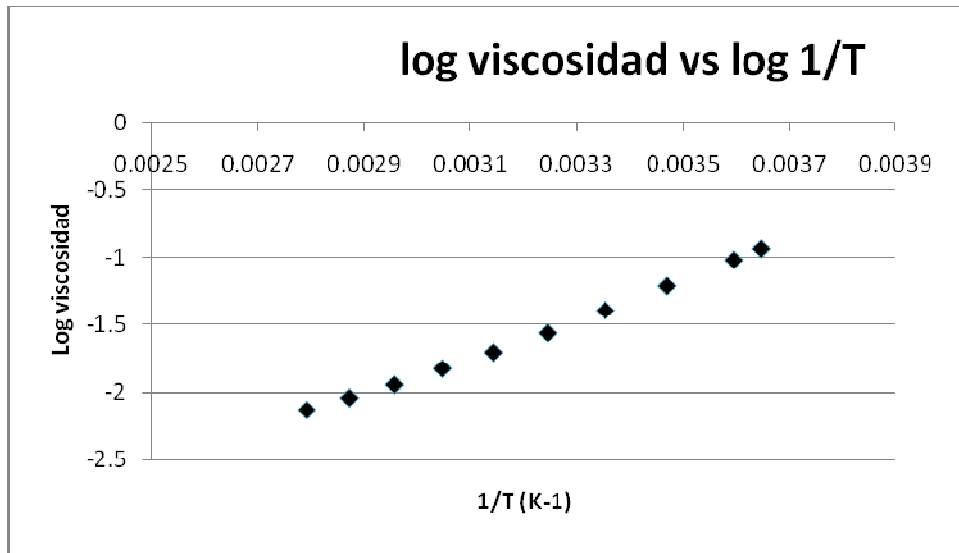
**Muestra extraída a las condiciones 350 bar, 60°C, 1 50 min.**



**Figura 42.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 150 min.

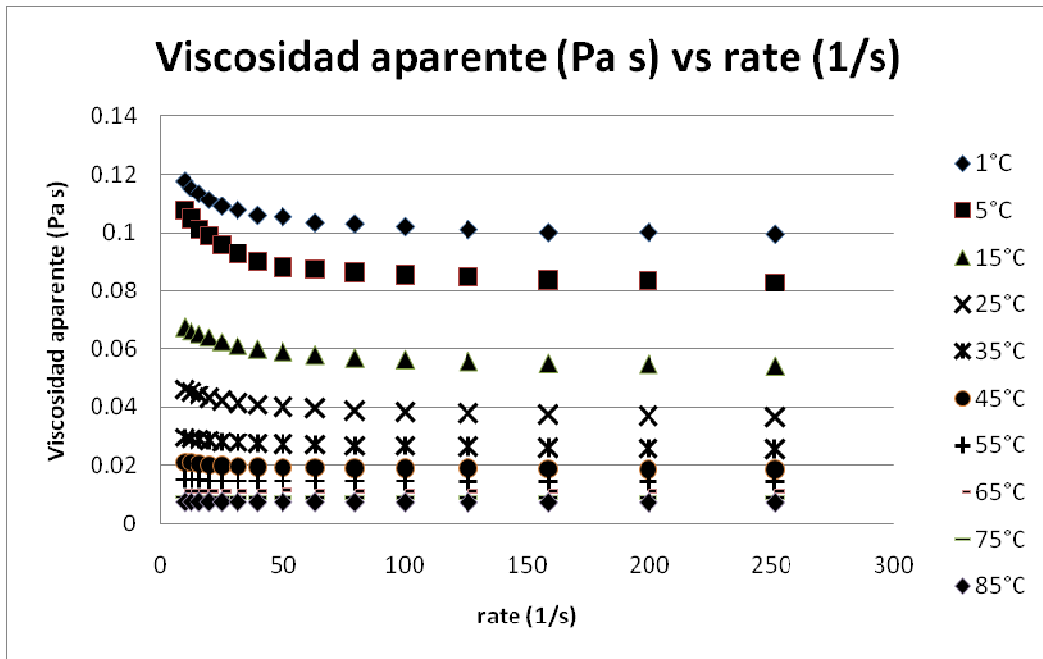


**Figura 43.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 150 min.

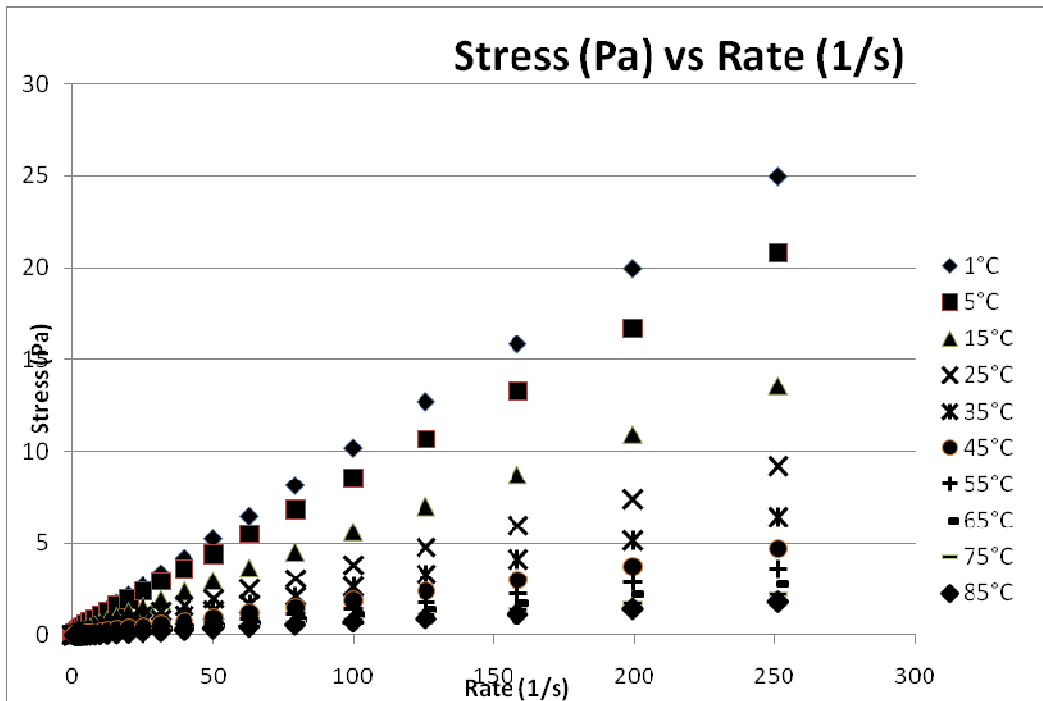


**Figura 44.** Log viscosidad vs  $1/T$  ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 150 min.

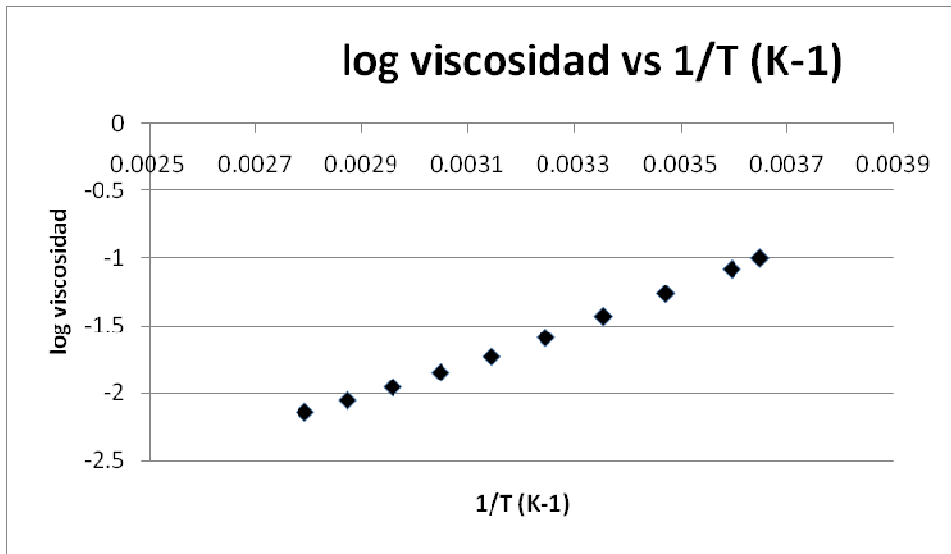
Muestra extraída a las condiciones 350 bar, 60°C, 2 40 min.



**Figura 45.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 240 min.

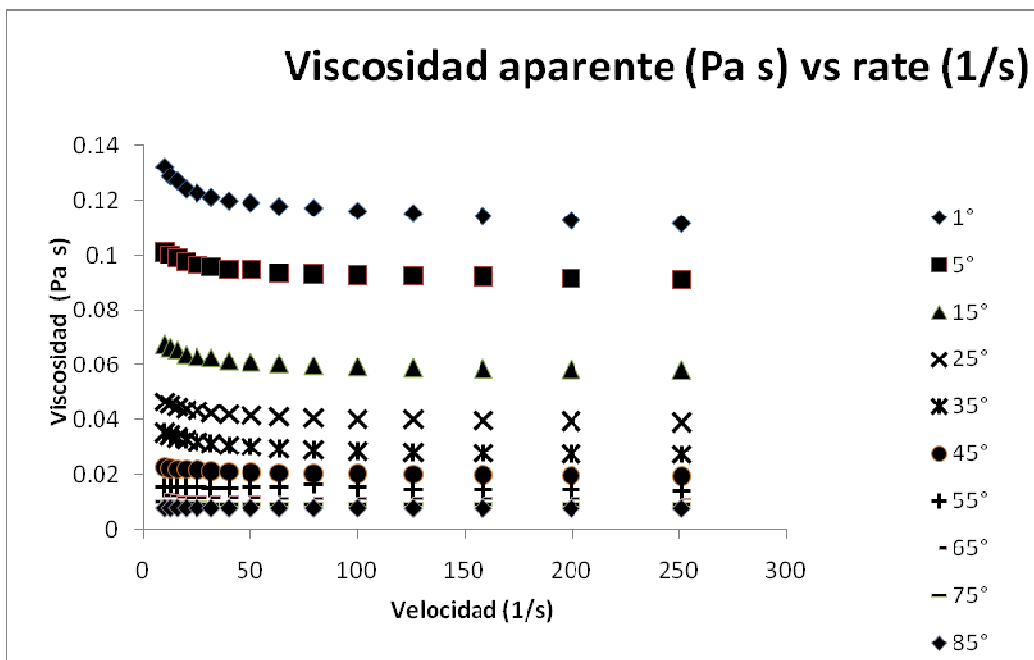


**Figura 46.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 240 min.



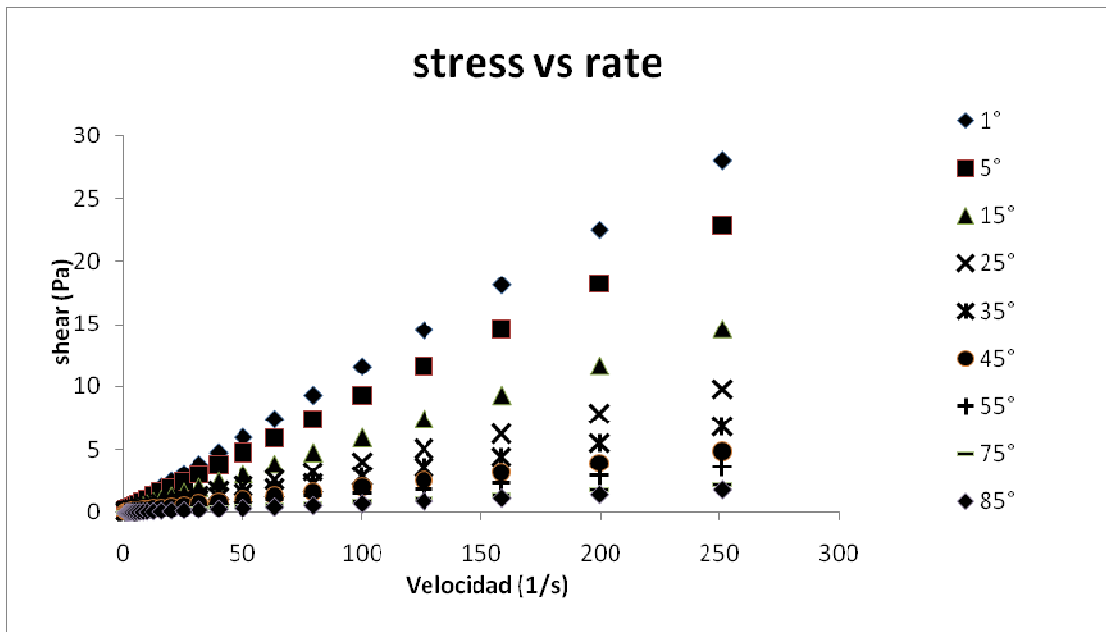
**Figura 47.** Log viscosidad vs  $1/T$  ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 350 bar, 60°C, 240 min.

**Muestra extraída a las condiciones 350 bar, 80°C, 1 50 min.**

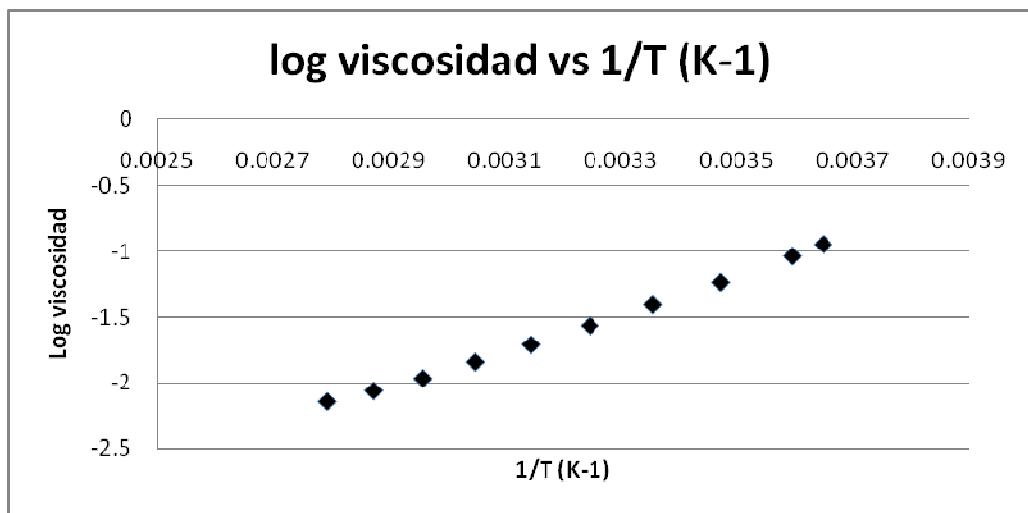


**Figura 48.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 80°C, 150 min.



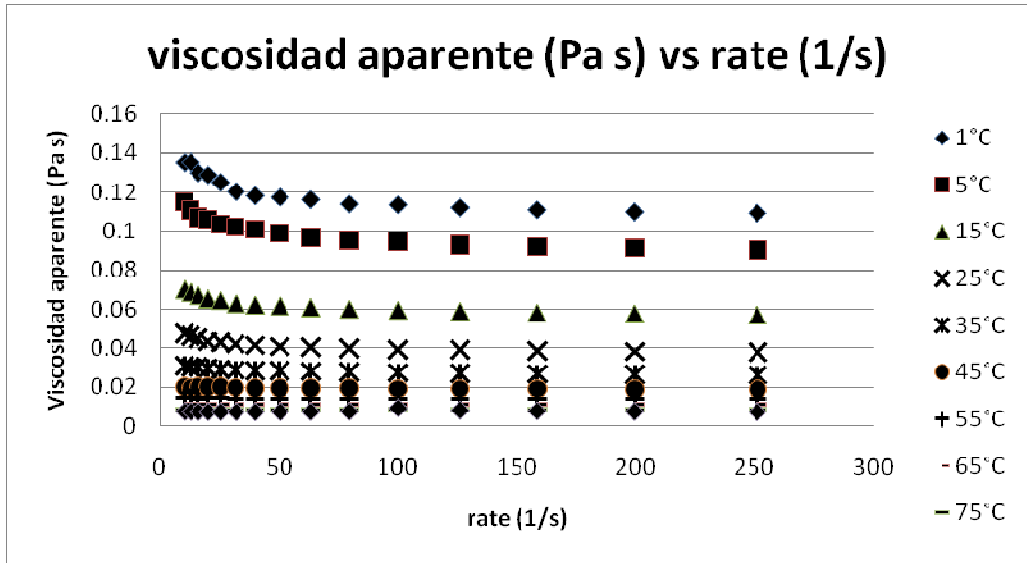


**Figura 49.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 350 bar, 80°C, 150 min.

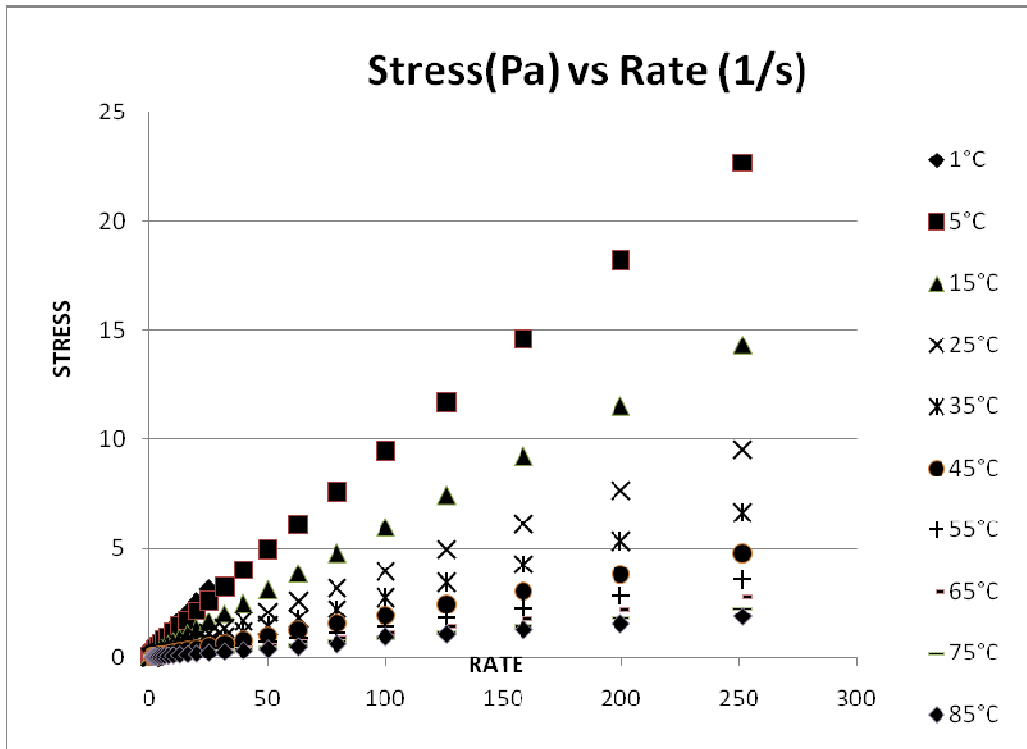


**Figura 50.** Log viscosidad vs  $1/T$  ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 350 bar, 80°C, 150 min.

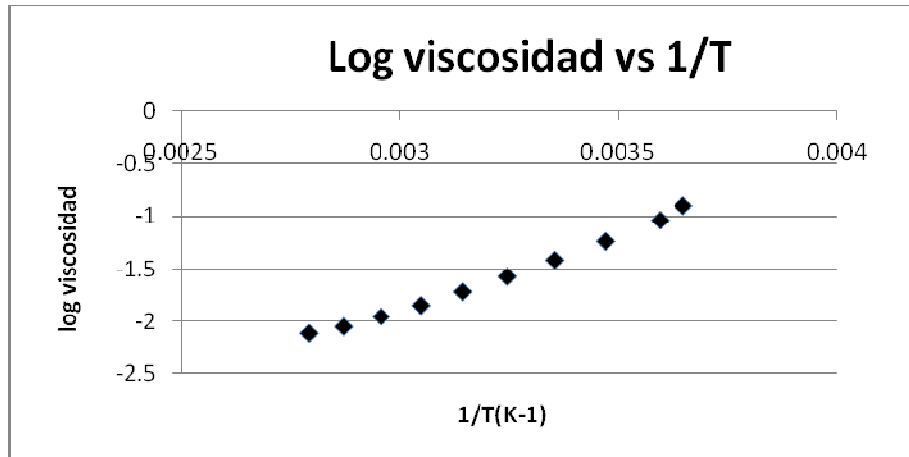
Muestra extraída a 450 bar, 40°C, 60 min.



**Figura 51.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 60 min.

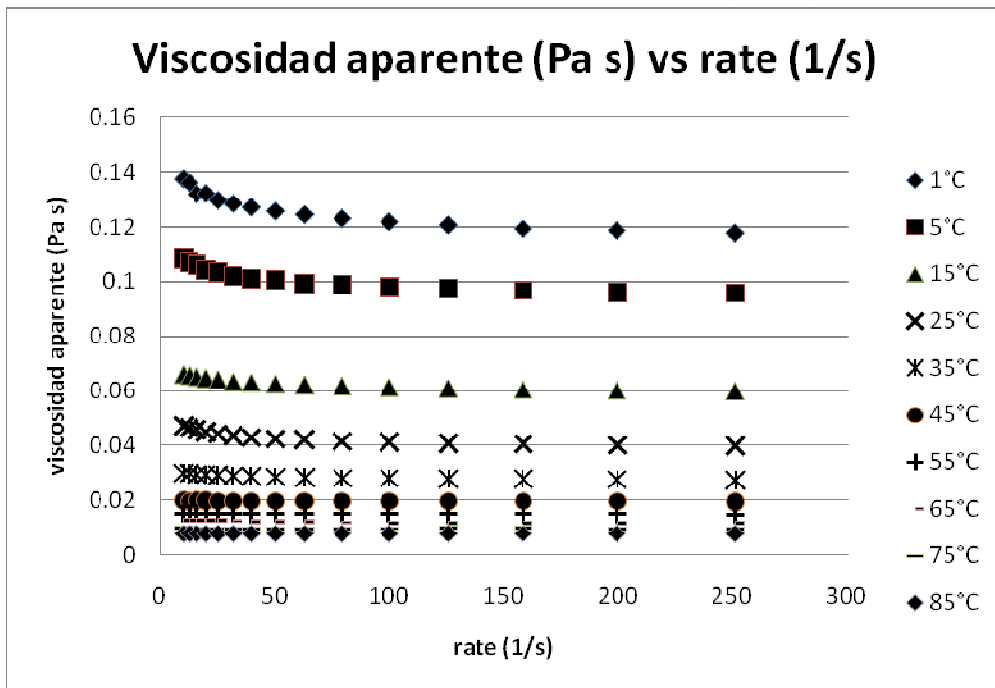


**Figura 52.** Shear stress (Pa) vs rate(1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 60min.

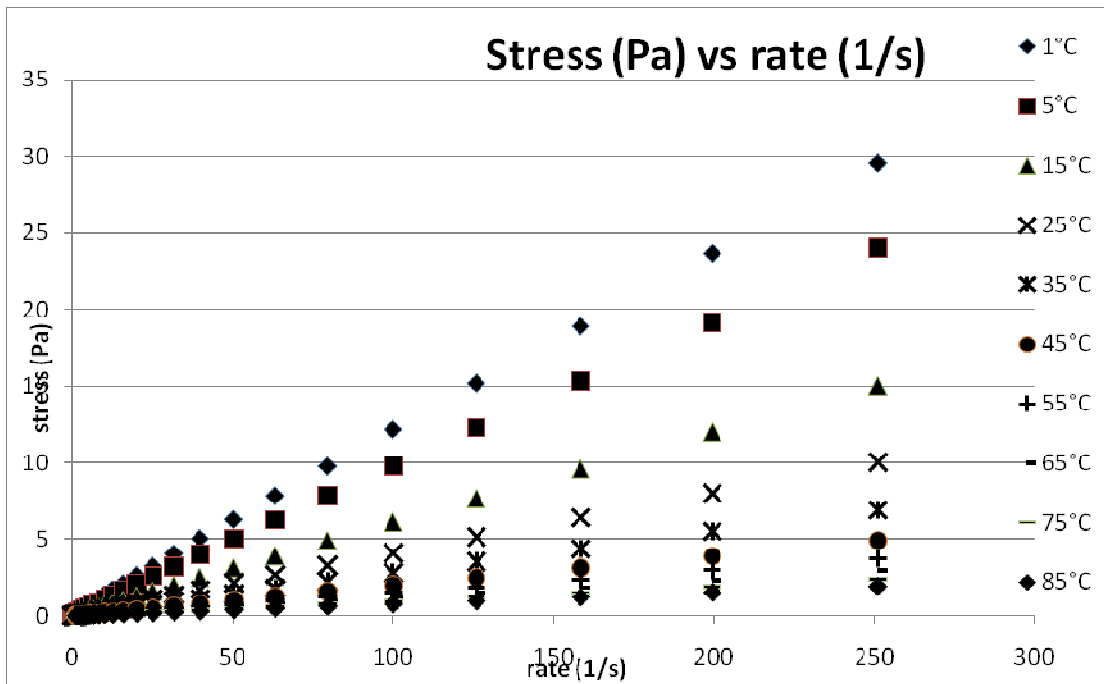


**Figura 53.** Log viscosidad vs 1/T ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 60 min.

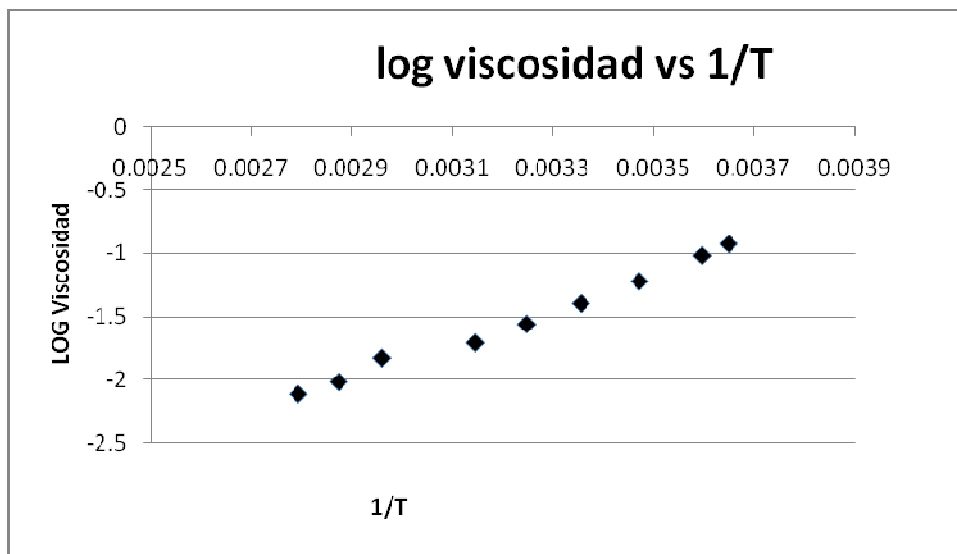
**Muestra extraída a las condiciones 450 bar, 40°C, 2 40 min.**



**Figura 54.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 240 min.

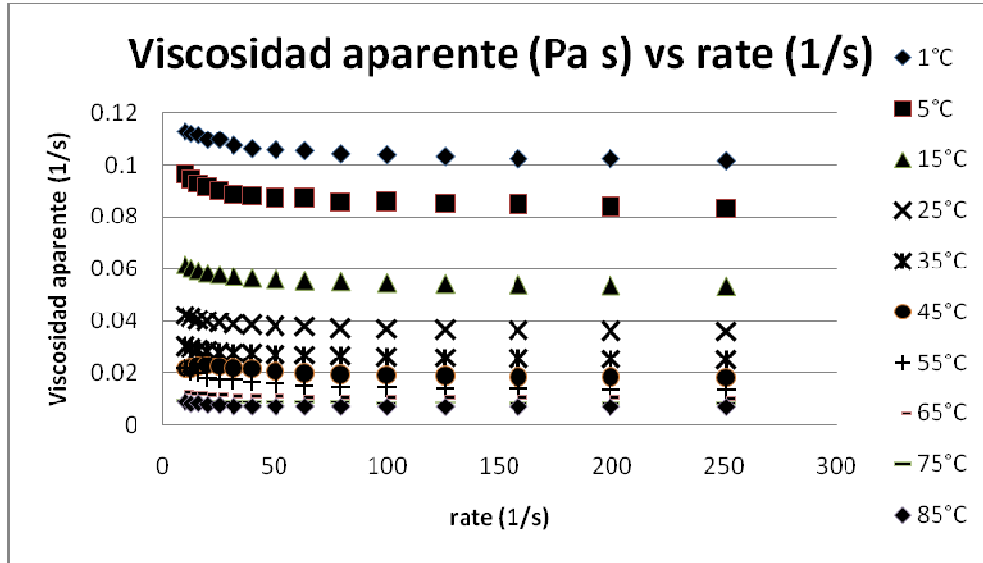


**Figura 55.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 240 min.

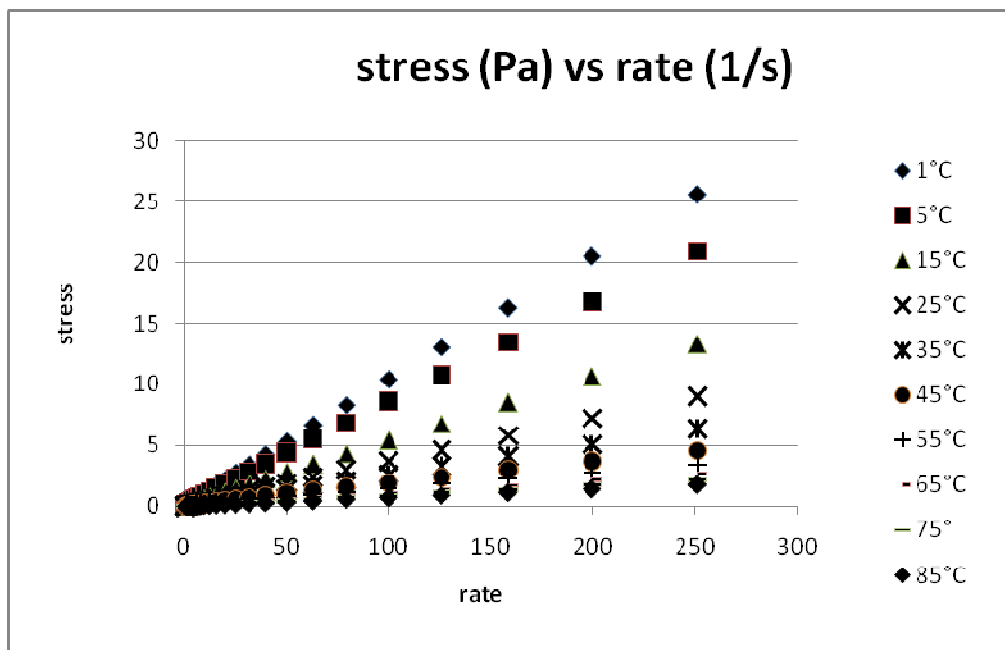


**Figura 56.** Log viscosidad vs 1/T ( $K^{-1}$ ) para el aceite extraído a 450 bar, 40°C, 240 min.

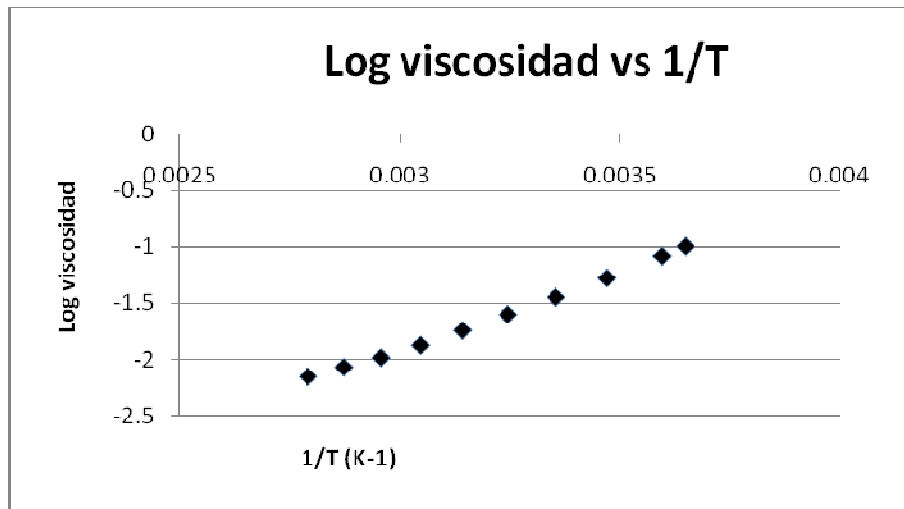
Muestra extraída a las condiciones 450 bar, 60°C, 1 50 min.



**Figura 57.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a las condiciones 450 bar, 60°C, 150 min.

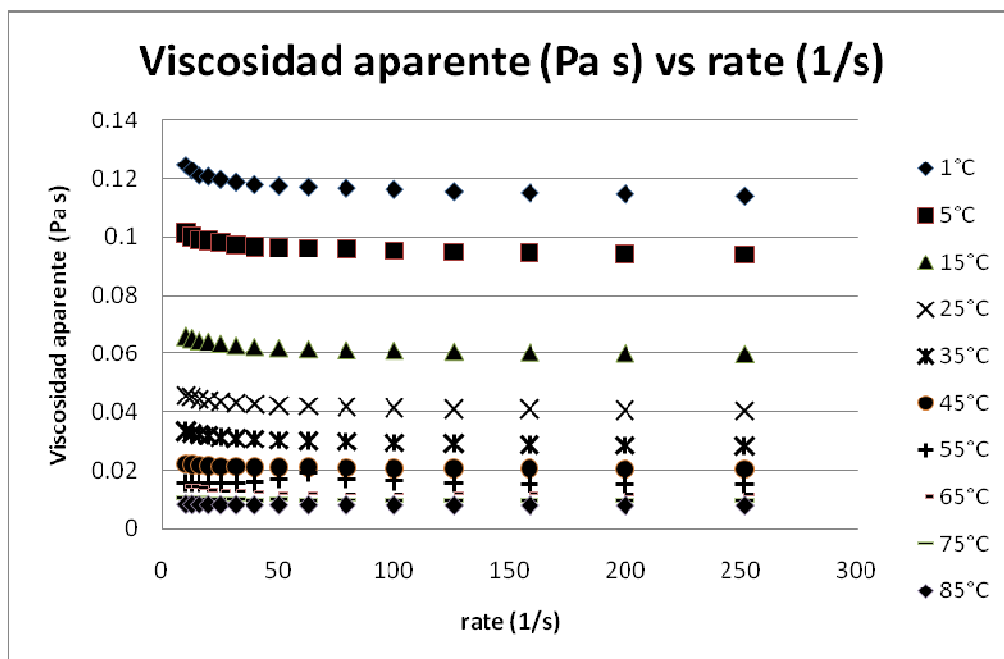


**Figura 58.** Shear stress(Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 60°C, 150 min.

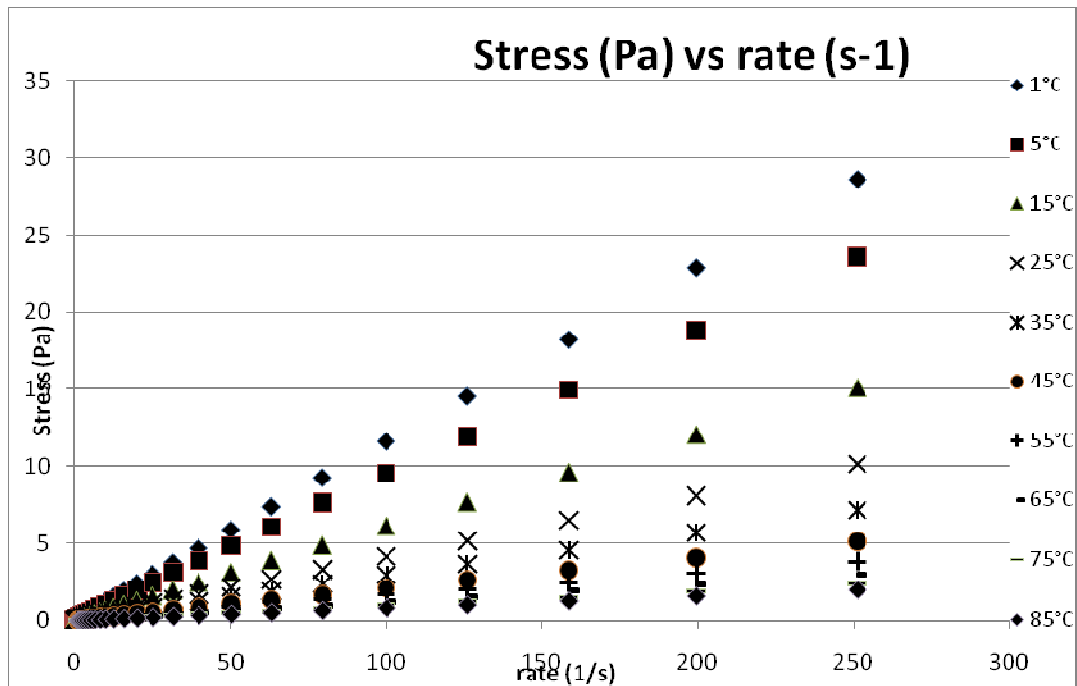


**Figura 59.** Log viscosidad vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 60°C, 150 min.

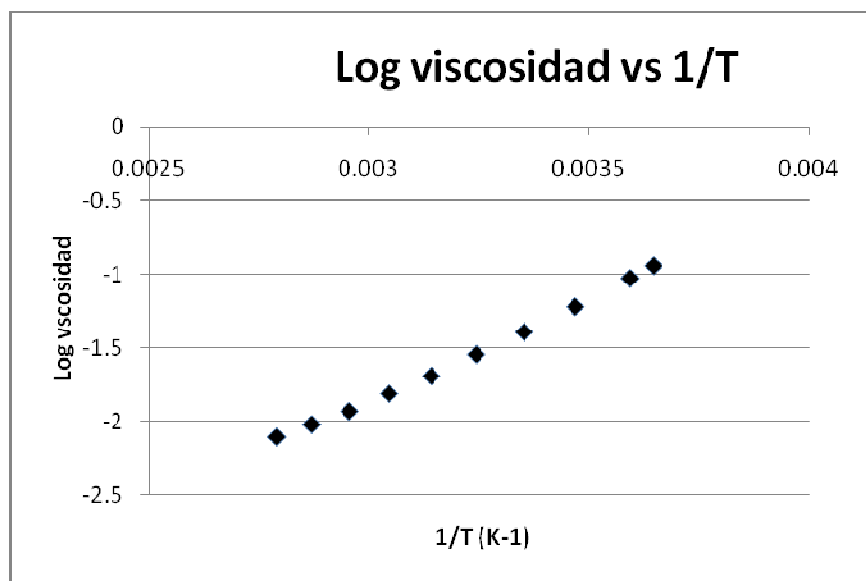
Muestra extraída a las condiciones 450 bar, 80°C, 60 min.



**Figura 60.** Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 80°C, 60 min.



**Figura 61.** Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído a 450 bar, 80°C, 60 min.



**Figura 62.** Log viscosidad vs 1/T (K<sup>-1</sup>) para el aceite extraído a 450 bar, 80°C, 60 min.

Muestra extraída con el método Soxhlet

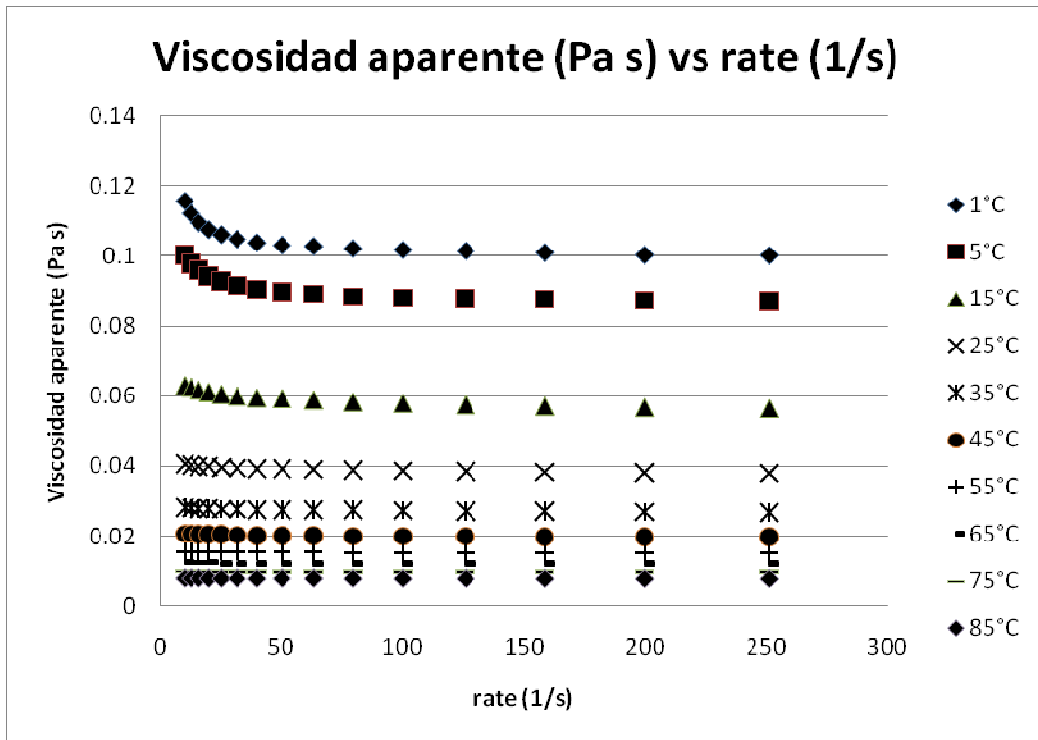


Figura 63. Viscosidad aparente (Pa s) vs rate (1/s) para el aceite extraído por el método Soxhlet

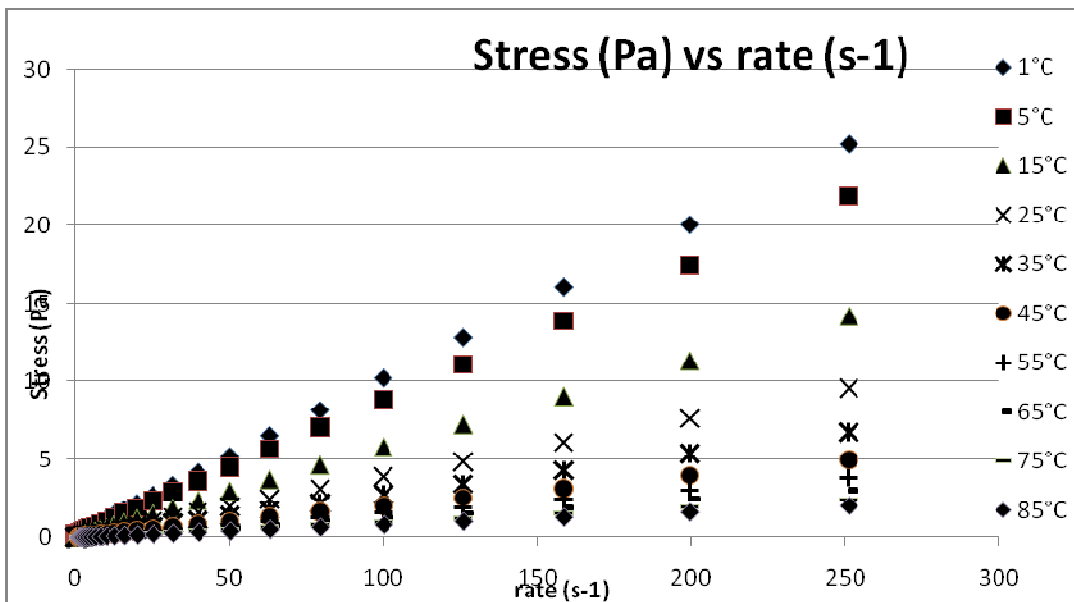
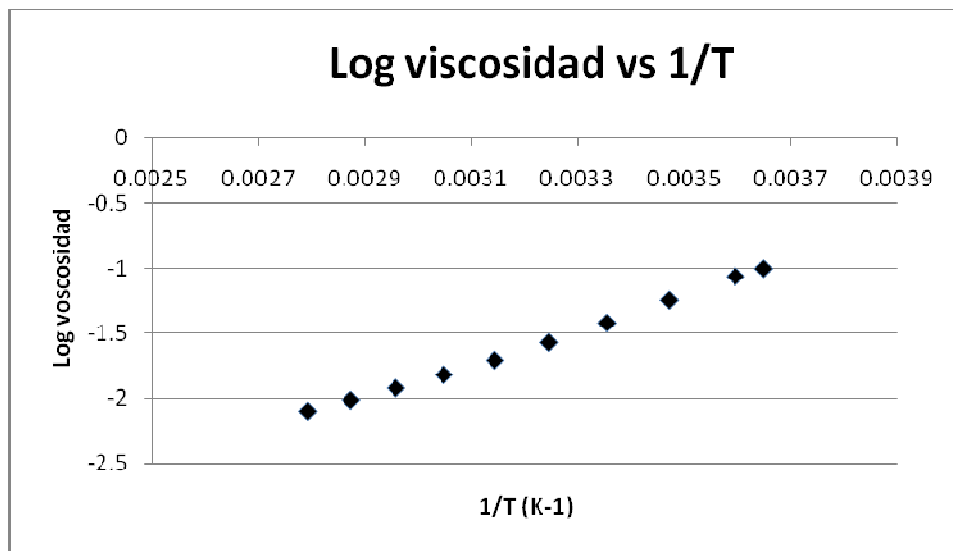


Figura 64. Shear stress (Pa) vs rate (1/s) para el aceite extraído por el método Soxhlet.





**Figura 65.** Log viscosidad vs 1/T (K<sup>-1</sup>) para el aceite extraído por el método Soxhlet