

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“DETERMINACIÓN DE TIEMPO Y TEMPERATURA EN LA OBTENCIÓN DE
MUCILAGO DE CHÍA (*Salvia hispanica L.*) POR DOS MÉTODOS DE
EXTRACCIÓN”**

TESIS

PRESENTADA POR:

VLADIMIR TICONA ARAPA

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PROMOCIÓN: 2010 - II

PUNO – PERÚ

2017

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“DETERMINACIÓN DE TIEMPO Y TEMPERATURA EN LA OBTENCIÓN DE
MUCILAGO DE CHÍA (*Salvia hispánica L.*) POR DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN”

TESIS

PRESENTADA POR:

VLADIMIR TICONA ARAPA

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL



FECHA DE SUSTENTACIÓN: 18 DE SETIEMBRE DEL 2017

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:

Ing. M.Sc. Edgar Gallegos Rojas

PRIMER MIEMBRO

:

Ing. M.Sc. Amilcar Bueno Macedo

SEGUNDO MIEMBRO

:

Ing. Whany Quispe Chambi

DIRECTOR

:

Dr. Alejandro Coloma Paxi

PUNO - PERÚ

2017

Área: Ingeniería y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

DEDICATORIA

Aún en los días que yo te olvide Tú siempre estuviste en mi vida. A ti Dios mío con tu bendición todo es posible

A la persona que me amó antes de conocerme, mi Madre por todo su amor y apoyo incondicional

A todos mis hermanos en especial a mi hermana Karyn por apoyarme en la conclusión de este trabajo.

Al amor de mi vida Marleny por su amor y hacerme muy feliz por la pronta llegada de nuestra mejor bendición mi Bebe.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, en especial a nuestros docentes por haber compartido sus conocimientos y contribuido para nuestra formación profesional.
- Al Dr. Alejandro Coloma Paxi por la dirección del presente trabajo.
- Al Ing. M.Sc. Edgar Gallegos Rojas por el apoyo que me brindó para la ejecución del presente trabajo.
- Al Ing. M.Sc. Amilcar Bueno Macedo por el apoyo que me brindó para la ejecución del presente trabajo.
- Al Ing. Whany Quispe Chambi por el apoyo que me brindó para la ejecución del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Objetivo general.....	12
1.2. Objetivos específicos	12
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. Historia de la semilla de Chía	13
2.2. Descripción botánica y características de la chía.....	14
2.3. Composición química y aspectos nutricionales de la chía.....	16
2.3.1. Propiedades de la Chía	18
2.4. Mucilago.	23
2.4.1. Propiedades físico químicas de los mucilagos y gomas.....	25
2.4.2. Peso equivalente	25
2.4.3. Grado de metóxilo.....	25
2.4.4. Ácido galacturónico	26
2.4.5. Grado de esterificación.....	27
2.5. Antioxidantes	28
2.6. Aplicaciones.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Lugar de ejecución.....	31
3.2. Materia prima.....	31
3.3 Equipos	31
3.4. Materiales.....	31
3.5. Reactivos.....	32
3.6. Metodología del proceso experimental.....	32
3.6.1. Extracción de mucilago	32
3.6.2. Metodología de procesamiento.	33
3.7. Preparación de las muestras	35
3.8. Diseño Experimental.....	37
3.8.1. Identificación de las variables de estudio.....	37

3.9. Diseño Estadístico.....	39
3.10. Métodos de análisis.....	41
3.10.1. Análisis físico químico.....	41
3.10.2. Determinación de Rendimiento.....	41
3.10.3. Determinación de Peso Equivalente.....	41
3.10.4. Determinación de contenido de metóxilo.....	42
3.10.5. Determinación de ácido galacturónico.....	42
3.10.6. Determinación de grado de esterificación.....	43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	44
4.1. Determinación de rendimiento.....	44
4.2. Determinación de Peso Equivalente.....	47
4.3. Determinación de contenido de metóxilo.....	50
4.4. Determinación de ácido galacturónico.....	52
4.5. Determinación de grado de esterificación.....	54
CONCLUSIONES.....	57
RECOMENDACIONES.....	58
REFERENCIAS.....	59
ANEXOS.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Jerarquía taxonómica de la chía	14
Tabla 2. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos.....	17
Tabla 3. Composición nutricional de las semillas de chía.....	18
Tabla 4. Contenido de amino ácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía.....	19
Tabla 5. Contenido de vitaminas presentes en la semilla de chía.....	21
Tabla 6. Concentración de antioxidantes en la semilla de chía	29
Tabla 7. Preparación de muestras	36
Tabla 8. Factores en estudio	37
Tabla 9. Descripción del análisis de varianza para el modelo estadístico.	40
Tabla 10. Análisis de varianza para rendimiento.	44
Tabla 11. Análisis de varianza para el peso equivalente.	47
Tabla 12. Análisis de varianza para el contenido de metóxilo.	50
Tabla 13. Análisis de varianza para determinación de ácido galacturónico.....	52
Tabla 14. Análisis de varianza para el grado de esterificación.	54
Tabla 15. Rendimiento (%)	62
Tabla 16. Peso equivalente (gramos / equivalente gramo).....	63
Tabla 17. Metóxilo (%)	64
Tabla 18. Ácido galacturónico (%).....	65
Tabla 19. Grado de esterificación (%).....	66
Tabla 20. Resultado de los tratamientos.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plántulas (izquierda) e inflorescencias. (centro y derecha).....	15
Figura 2. Semillas de chía (salvia hispánica l.)	16
Figura 3. Ubicación del mucilago en un vegetal	24
Figura 4. Pectinas de alto y bajo grado de metóxilo.....	26
Figura 5. Ácido galacturónico	27
Figura 6. Cadenas de ácidos D-galacturónicos por enlaces (1-4).....	28
Figura 7. Proceso para la obtención del mucilago de chía	33
Figura 8. Flujo experimental de la presente investigación.	38
Figura 9. Gráfica de rendimiento.....	46
Figura 10. Gráfica de superficie de peso equivalente.....	49
Figura 11. Gráfica de contenido de metóxilo.	51
Figura 12. Contenido de ácido galacturónico.....	53
Figura 13. Análisis del contenido de grado de esterificación.....	55
Figura 14. Gráfica de contornos de rendimiento.	67
Figura 15. Gráfica de superficie de rendimiento.	67
Figura 16. Gráfica de contornos de peso equivalente.....	68
Figura 17. Gráfica de superficie de peso equivalente.....	68
Figura 18. Gráfica de contornos de contenido de metóxilo.....	69
Figura 19. Gráfica de superficie de contenido de metóxilo.....	69
Figura 20. Gráfica de contornos de ácido galacturónico.	70
Figura 21. Gráfica de superficie de ácido galacturónico.	70
Figura 22. Gráfica de contornos del grado de esterificación.....	71
Figura 23. Gráfica de superficie del grado de esterificación	71

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto del tiempo y temperatura en la extracción del mucílago de chíá (*Salvia hispánica* L.). Por dos métodos para lo cual se plantearon variables experimentales: temperatura (70°C y 90°C), tiempo de contacto entre semilla y solución (15 minutos, 25 minutos y 35 minutos) y método de extracción (extracción ácida y extracción alcalina), se realizó por un proceso de inmersión de granos de chíá en solución de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio a una concentración 0.2 molar variando temperatura y tiempo de extracción de acuerdo a las variables experimentales. Se evaluaron al mucílago extraído rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo, ácido galacturónico y grado de esterificación los resultados obtenidos muestran que a medida que se incrementa la temperatura y tiempo de extracción afecta significativamente al rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo y ácido galacturónico, sin embargo el tiempo no afecta en el contenido de ácido galacturónico esto sucede en los dos métodos de extracción los mejores resultados se obtuvieron con hidróxido de sodio con una temperatura de 90°C y 35 minutos en el rendimiento el valor máximo alcanzado fue 5.93% con la solución de NaOH a 90°C de temperatura y 35 minutos y un valor mínimo de 2.32% en la solución de NaOH a 70°C en 15 minutos en el peso equivalente el valor máximo alcanzado fue de 2623.67 gramos/ equivalente gramo, con la solución de H₂SO₄ a 90°C de temperatura en 35 minutos y el valor mínimo fue de 1435.24 gramos/ equivalente gramo en la solución de H₂SO₄ en 70°C en 35 minutos, en el contenido de metóxilo el valor máximo alcanzado fue de 6.98% con la solución de H₂SO₄ a 90°C de temperatura en 35 minutos y el valor mínimo fue 3.78 en la solución de H₂SO₄ a 70°C en 15 minutos. En el ácido galacturónico el máximo valor alcanzado fue de 46.17% en la solución de NaOH a una temperatura de 90°C en 35 minutos y el mínimo valor fue de 36.9% en la solución de NaOH a 70°C en 15 minutos en el grado de esterificación el valor máximo alcanzado fue de 81.01% en la solución de NaOH a una temperatura de 90°C en 35 minutos y el mínimo valor fue de 74.88% en la solución de H₂SO₄ a 70°C en 15 minutos. En conclusión la temperatura y el tiempo afecta significativamente al rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo, ácido galacturónico y grado de esterificación. Teniendo como mejor temperatura 90°C y mejor tiempo de concentración de semilla 35 minutos.

Palabras claves: chíá, ácido sulfúrico, hidróxido de sodio, mucílago, extracción.

ABSTRACT

The present work of investigation has as aim determined the effect of the time and temperature in the extraction of the mucilage of chía (Hispanic Sage L.). For two methods for which experimental variables appeared: temperature (70°C and 90°C), time of contact between seed and solution (15 minutes, 25 minutes and 35 minutes) and method of extraction (acid extraction and alkaline extraction) the process of extraction fulfilled for a process of dip in solution of sulphuric acid and hydroxide of sodium to a concentration 0.2 molar changing temperature and time of extraction of agreement to the experimental variables. There was evaluated to the extracted slime performance, equivalent weight, contained of metóxilo, acid galacturónico and degree of esterificación the obtained results show that as the temperature is increased and time of extraction it concerns significantly the performance, Equivalent weight, contained of metóxilo and acid galacturónico, nevertheless the time does not affect in the content of acid galacturónico this happens in both methods of extraction the best results obtained with hydroxide of sodium with a temperature of 90°C and 35 minutes in the performance the maximum reached value it was 5.93 % with NaOH's solution to 90°C of temperature and 35 minutes and a minimal value of 2.32 % in NaOH's solution to 70°C in 15 minutes in the equivalent weight the maximum reached value was of 2623.67 grams/equivalent gram, with the solution of H₂SO₄ to 90°C of temperature in 35 minutes and the minimal value was of 1435.24 gram's/equivalent gram In the solution of H₂SO₄ in 70°C in 35 minutes, in the content of metóxilo the maximum reached value was 6.98 % with the solution of H₂SO₄ to 90°C temperature in 35 minutes and the minimal value was 3.78 in the solution of H₂SO₄ to 70°C in 15 minutes. In the acid galacturónico the maximum reached value was 46.17 % in NaOH's solution to a temperature of 90°C in 35 minutes and the minimal value was 36.9 % in NaOH's solution To 70°C in 15 minutes in the degree of esterificación the maximum reached value was 81.01 % in NaOH's solution to a temperature of 90°C in 35 minutes and the minimal value was 74.88 % in the solution of H₂SO₄ to 70°C in 15 minutes. In conclusion the temperature and the time concerns significantly the performance, equivalent weight, contained of metóxilo, acid galacturónico and degree of esterificación. Having as better temperature 90°C and better time of concentration of seed 35 minutes.

Key words: chía, sulphuric acid, hydroxide of sodium, slime, extraction.

I. INTRODUCCIÓN

El mucílago de chía, carbohidrato complejo de alto peso molecular, es un componente importante de la semilla por su potencial importancia fisiológica. Este mucílago emerge de la semilla cuando entra en contacto con agua, constituyendo un hidocoloide con potencial uso como agente espesante en la industria de alimentos y farmacéutica. La búsqueda de nuevas fuentes de alimentos saludables, con nutrientes y propiedades funcionales adecuadas, es cada vez más importante. Dentro de esta tendencia las semillas ocupan un lugar clave. La chía (*Salvia hispánica* L.) es una planta herbácea anual y estival perteneciente a la familia Labiatae, originaria de México y Guatemala. La planta produce numerosas semillas pequeñas de color oscuro, existiendo cultivares con semillas blancas. Estas semillas ofrecen una nueva oportunidad para mejorar la nutrición humana, siendo una fuente natural de ácidos grasos omega-3, antioxidantes, proteínas, vitaminas, minerales y fibra dietética (Ayerza, 2009)

En gustos, preferencias y la demanda en la nueva era crea una nueva área de desarrollo y reto para la agroindustria. Dentro de este contexto, la industria alimentaria necesita alcanzar dichas demandas por medios tales como la incorporación de ingredientes adicionales en la producción y desarrollo de productos nuevos. La incorporación de ingredientes naturales y/o funcionales que confiera a los alimentos con características organolépticas y sensoriales que sean iguales o mejores que los artificiales, dando al consumidor alimentos saludables. Una alternativa que posee gran potencial dentro de la industria alimentaria es el uso de semillas ancestrales y sus derivados. Estas semillas como la quinua, kañihua y la chía fueron reconocidas por antiguas civilizaciones por sus propiedades nutricionales y medicinales a lo largo de Sudamérica. Esta última *Salvia hispánica* L. comúnmente conocida como chía, es una oleaginosa que fue utilizado por los aztecas no solo como alimento, pero además como ofrenda para los dioses. Esta semilla es una fuente natural de omega-3 y omega-6 (ácido α -linolénico), fibra (+30%), proteínas de alto valor biológico, y antioxidantes naturales que protegen la semilla de ciertas condiciones adversas. La chía ayuda la prevención de enfermedades cardiovasculares, desordenes del sistema nervioso y diabetes, entre otros. Gracias a sus propiedades la chía es considerada como suplemento dietético por la FDA. en los Estados Unidos y aceptado también en la Comunidad Europea en 2009 como *novel food* (Guiotto , 2013)

En el momento las semillas de chía ofrecen un gran potencial para la agroindustria (alimentos, alimento para animales, cosméticos y farmacéuticos, entre otros) debido a su contenido de nutrientes. Sin embargo las investigaciones realizadas son enfocadas en los ácidos omega-3 y muy poca investigación se tiene acerca del mucilago que contiene esta semilla. El hidratar las semillas de chía estas pueden absorber hasta 12 veces su peso en agua, siendo envuelto en un abundante polisacárido mucilaginoso que brota de la capa exterior de la semilla (fibra soluble). Para mencionar, el mucílago no fue estudiado en detalle y muy poco es conocido acerca de las propiedades industriales que pueden proveer (espesantes, estabilizantes, emulsionantes, films comestibles, pomadas, etc.) debido a la necesidad de encontrar nuevas alternativas de mucilagos o gomas comerciales, la obtención de mucilago de chía (*Salvia hispánica L.*), se ve como una posibilidad interesante de valor agregado a la chía y como actividad económica importante.

Los objetivos de esta investigación fueron comparar el rendimiento de dos métodos de extracción para la obtención de mucilago de chía; estudiando el efecto de la temperatura de las soluciones utilizadas y del tiempo de contacto entre semilla y solución; además de caracterizar física y químicamente el mucilago de chía.

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los métodos de extracción de H_2SO_4 y $NaOH$ en la obtención de mucilago de la semilla chía (salvia hispánica L.)

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el método de extracción del mucilago de chía y en qué medida afecta en su rendimiento.

Determinar la temperatura adecuada de las soluciones utilizadas y en qué medida afecta su aplicación en las características físico químicas.

Determinar el tiempo adecuado de contacto entre semilla y solución y en qué medida afecta su aplicación en las características físico químicas.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. HISTORIA DE LA SEMILLA DE CHÍA

La chía es originaria de los valles centrales de México y norte de Guatemala, donde las especies de la familia *Labiatae* son concentrados y las observaciones científicas pueden ser encontrados en los doce volúmenes del código Florentino, escrito por Fray Bernardino de Sahagún en el tiempo de la conquista de América entre 1548 y 1580, las semillas de chía se comenzaron a utilizarse en la alimentación humana alrededor de 3500 AC, adquiriendo importancia como principal cultivo en México central entre 1500 a 900 AC (Muñoz, 2012). Los aztecas y los mayas utilizaban las semillas de chía en la preparación de muchos medicamentos, alimentos y pinturas. Fue uno de los principales cultivos de las sociedades pre-colombinas, solo superado por maíz y frijoles. En el tiempo de la conquista existía un número de especies de plantas de los cuales cuatro destacaba desde el punto de vista nutricional: Amarantho (*Amaranthus Hypochondriacus*), frijoles (*Phaseolus vulgaris*), chía (*Salvia hispánica L.*), y maíz (*Zea Mays*) (Celli, 2014).

Las semillas de chía, maíz, frijoles y amaranto conformaban los componentes básicos de la dieta pre-colombina de la población en las americanas, dietas que comparado con los modernos homólogos, alcanzaban los requerimientos dietarios establecidos hoy por la FAO y la organización mundial de la salud (FAO, 2011).

La palabra Chía es una adaptación española de *Chian* o *Chien* en plural que significa “aceitoso”, la cual es derivado de *Náhuatl*, el lenguaje de los aztecas. El nombre Chía ensimismo fue adaptado por el botánico Sueco Karl Linnaeus. El territorio previo de *Náhuatl Chiapan*, significa “Río de Chía”, tomó su nombre de la planta, y en la orilla del río Grijalva la planta creció desde tiempos ancestrales. Hoy estas tierras forman parte del estado de Chiapas de México. Las poblaciones pre-colombinas además utilizaban la chía en la preparación de bebidas populares denominada “Chía fresca” la misma que hoy se consume todavía (Muñoz-Hernández, 2012).

Recientes estudios ayudaron a explicar el ¿por qué? Las antiguas civilizaciones consideraron la chía como componente básico de sus dietas. La composición química de las semillas y su valor nutricional le otorga un gran potencial de comercialización y avances en tecnología están permitiendo la oportunidad para el establecimiento de la

industria agrícola capaz de ofrecer al mundo un nuevo y antiguo cultivo al mismo tiempo (Ayerza, 2009)

2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CARACTERÍSTICAS DE LA CHÍA

La chía, *Salvia hispánica* L. es una especie que pertenece a la familia de Lamiaceae - menta como la menta, el tomillo, el romero y el orégano. En la Tabla 1 se muestra la información sobre la jerarquía taxonómica de la chía.

JERARQUÍA DESCRIPCIÓN

Tabla 1. Jerarquía taxonómica de la chía

JERARQUÍA	DESCRIPCIÓN
Reino	Plantae- Planta
Subreino	Tracheobionta – Planta vascular
División	Magnoliophyta – Angiosperma
Clase	Magnoliopsida – Dicotiledónea
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	Salvia L – Salvia
Especie	Salvia hispánica L.

FUENTE: (Jaramillo, 2013)

La Chía es una hierba anual que florece durante los meses de verano. Es aproximadamente un metro de alto, con contraposición, peciolado y hojas dentadas que son de 4 a 8 cm de longitud y de 3 a 5 cm de ancho, las flores son hermafroditas y se desarrollan en numerosos grupos en un punta protegida por pequeños espinas puntiagudas. Las semillas son ovaladas, lisos y brillosos con coloración moteada entre gris, Marrón, oscuro y blanco, se encuentran agrupados en grupos de cuatro (figura 1) (Ayerza, 2009). Las plantas poseen tallos cuadrangulares que son peludos y surcados. La planta crece en suelos ligeros a medio arcilloso y arenoso, aun en suelos áridos que poseen buen drenaje. La planta es semitolerante a los suelos ácidos y la sequía. La chía

es cultivada básicamente en áreas montañosas y posee poca tolerancia a fenómenos abióticos tales como helada y lugares sin iluminación solar (Capitani, 2013).



Figura 1. Plántulas (izquierda) e inflorescencias de salvia hispánica L. (centro y derecha)

El fruto, al igual que otras especies de la familia *Lamiaceae*, es típicamente un esquizocarpo consistente en lóculos indehiscentes que se separan para formar 4 mericarpios parciales denominados núculas, comúnmente conocidos como “semillas”, los cuales son monospermos, ovals, suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares marrones en su mayoría y algunos blancos y miden entre 1,5 a 2,0 mm de longitud (Ayerza y Coates, 2009) (Figura 2).



Figura 2. Semillas de chía (salvia hispánica L.)

2.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ASPECTOS NUTRICIONALES DE LA CHÍA

La semilla de chía (*Salvia hispanica L.*) está compuesta principalmente por proteínas, energía, lípidos, carbohidratos, fibra, cenizas, vitaminas, fibra, entre otros. La Tabla 2. Muestra la composición de las semillas de chía y la correspondiente a los cinco cereales de mayor importancia a nivel mundial (arroz, cebada, avena, trigo, maíz). En la misma puede observarse que el contenido de proteínas, lípidos, fibra y energía de la semilla de chía es mayor que los presentes en los demás cultivos. Además, si bien la chía es conocida principalmente Como una importante fuente de ácidos grasos ω -3, también contiene otros compuestos de importancia a nivel nutricional.

Tabla 2. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos.

Grano	Energía kcal/100g	Proteínas %	Lípidos %	Carbohidratos %	Fibra %	Cenizas %
Arroz	358	6,5	0,5	79,1	2,8	0,5
Cebada	354	12,5	2,3	73,5	17,3	2,3
Avena	389	16,9	6,9	66,3	10,6	1,7
Trigo	339	13,7	2,5	71,1	12,2	1,8
Maíz	365	9,4	4,7	74,3	3,3	1,2
Chía	550	19-23	30-35	9-41	18-30	4-6

Fuente: (Capitani, 2013).

La semilla de chía posee desde un 19% a un 23% de proteínas, este porcentaje se compara favorablemente con otros granos nutricionales como el trigo (14%), maíz (14%) arroz (8,5%). Sin embargo a diferencia de otros granos, los aminoácidos de las proteínas de chía no tienen factores limitantes en la dieta de las personas adultas. Como fuente de proteínas la chía, luego de su ingestión, se digiere y absorbe muy fácilmente, esto resulta como un rápido transporte a los tejidos y utilización por parte de las células (Curiel,2013)

Los semilla de chía posee un contenido de aceite superior al de otras semillas oleaginosas de importancia comercial (Tabla 3), constituye el 32%-39% del total, donde el 60% de éstos es el ácido α -linolénico (omega-3, precursor de los ácidos DHA y EPA) y el 20% es ácido α -linoleico (omega-6). Esta elevada cantidad implica que la semilla de chía, junto con el lino (*Linum usitatissimum* L.) sea una de las mejores fuentes de ácidos grasos esenciales (AGE) de origen agrícola. Sin embargo, la chía, por encima del lino, es el cultivo con mayor porcentaje de estos AGE (α -linolénico y α -linoleico) al tener más del 80 % de sus lípidos con dicha característica. También, comparado con el aceite de menhaden (especie de róbalo) y de algas; o inclusive con el cártamo y el girasol con 75% y 67% respectivamente. Esta diferencia es aún mayor considerando que el cártamo y el girasol no contiene ácido α -linolénico. El aceite de colza también contiene un alto grado de insaturación (67%), pero esto es debido a su alto contenido de

ácido oleico (monoinsaturados), con un contenido relativamente bajo (27%) de ácidos grasos poliinsaturados (Segura, 2014).

Tabla 3. Composición nutricional de las semillas de chía.

Nutriente	100 g	1 porción (25 g)
Energía (Kcal.)	486	121,5
Proteínas (g)	16,54	4,14
Grasa total (g)	30,74	7,69
Ácidos grasos saturados	3,33	0,83
Ácidos grasos, monoinsaturados(g)	2,309	0,58
Ácidos grasos, poliinsaturados (g)	23,67	5,92
Ácidos grasos trans	0,14	0.04
Ácidos grasos Omega-3 (g)	17,83	4,46
colesterol (mg)	0	0
carbohidrato (g)	42,12	10,53
Fibra total dietaria (g)	34,4	8,6

Fuente: (USDA, 2011)

2.3.1. PROPIEDADES DE LA CHÍA

2.3.1.1. PROTEÍNA

El contenido de proteínas que posee la chía es de alrededor de un 19-20%, un porcentaje superior al de otros granos como el trigo (8-12%), maíz (9,42%), arroz (6,8%), avena (16,9%), cebada (9.9%) y amaranto (13.56%) (Becker *et al.*, 2005) Además, a diferencia de otros cereales posee lisina el cual es un aminoácido limitante, Esto significa que tiene un perfil parecido a la “proteína ideal” por lo que es de gran utilidad su incorporación en la dieta, y mezclada con otros granos, con el fin de producir una fuente equilibrada en proteínas. Las proteínas de la semilla de chía, a diferencia del trigo, avena, cebada y centeno, no contienen gluten (González, 2011).

2.3.1.2. AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos de las proteínas de la chía se muestran en la Tabla 4 Como puede observarse, las proteínas de chía presentan un buen balance de aminoácidos esenciales. Entre ellos, puede destacarse el contenido de lisina, así como porcentajes de metionina y cistina mayores que los presentes en las proteínas de otras semillas oleaginosas. Fuente: (Ayerza y Coates, 2009).

Tabla 4. Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía

Aminoácido	g/16 g N	Aminoácido	g/16 g N
Ácido aspártico	7.64	Isoleucina	3.21
Treonina	3.43	Leucina	5.89
Serina	4.86	Triptófano	-
Ácido glutámico	12.40	Tirosina	2.75
Glicina	4.22	Fenilalanina	4.73
Alanina	4.31	Lisina	4.44
Valina	5.10	Histidina	2.57
Cistina	1.47	Arginina	8.90
Metionina	0.36	Prolina	4.40
TOTAL			80.64

Fuente: (Ayerza y Coates, 2009)

Existen dos tipos principales de aminoácidos que están agrupados según su procedencia y características. Estos grupos son aminoácidos esenciales y aminoácidos no esenciales. Con base en estudios realizados se ha determinado que la semilla de chía contiene aminoácidos esenciales que el cuerpo necesita. A continuación se explica los más importantes:

2.3.1.3. HISTIDINA

Este aminoácido se encuentra abundantemente en la hemoglobina y se utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoide, alergias, úlceras y anemia. Es esencial para el crecimiento y la reparación de los tejidos. La Histidina, también es importante para el mantenimiento de las vainas de mielina que protegen las células nerviosas, es

necesario para la producción tanto de glóbulos rojos como blancos en la sangre, protege al organismo de los daños por radiación, reduce la presión arterial, ayuda en la eliminación de metales pesados del cuerpo y ayuda a la excitación sexual.

2.3.1.4. ISOLEUCINA

La isoleucina es necesaria para la formación de hemoglobina, estabiliza y regula el azúcar en la sangre y los niveles de energía. Este aminoácido es valioso para los deportistas porque ayuda a la curación y la reparación del tejido muscular, piel y huesos. La cantidad de este aminoácido se ha visto que es insuficiente en personas que sufren de ciertos trastornos mentales y físicos.

2.3.1.5. LEUCINA

La leucina interactúa con los aminoácidos isoleucina y valina para promover la cicatrización del tejido muscular, la piel y los huesos y se recomienda para quienes se recuperan de la cirugía. Este aminoácido reduce los niveles de azúcar en la sangre y ayuda a aumentar la producción de la hormona del crecimiento.

2.3.1.6. LISINA

Las funciones de este aminoácido son garantizar la absorción adecuada de calcio y mantiene un equilibrio adecuado de nitrógeno en los adultos. Además, la lisina ayuda a formar colágeno que constituye el cartílago y tejido conectivo. La lisina también ayuda a la producción de anticuerpos que tienen la capacidad para luchar contra el herpes labial y los brotes de herpes y reduce los niveles elevados de triglicéridos en suero.

2.3.1.7. METIONINA

La metionina es un antioxidante de gran alcance y una buena fuente de azufre, lo que evita trastornos del cabello, piel y uñas, ayuda a la descomposición de las grasas, ayudando así a prevenir la acumulación de grasa en el hígado y las arterias, que pueden obstruir el flujo sanguíneo a el cerebro, el corazón y los riñones.

Ayuda a desintoxicar los agentes nocivos como el plomo y otros metales pesados, ayuda a disminuir la debilidad muscular, previene el cabello quebradizo, protege contra los efectos de las radiaciones, es beneficioso para las mujeres que toman anticonceptivos orales, ya que promueve la excreción de los estrógenos, reduce el nivel de histamina en el cuerpo que puede causar que el cerebro transmita mensajes

equivocados, por lo que es útil a las personas que sufren de esquizofrenia.

2.3.1.8. CISTINA

La Cistina es un aminoácido azufrado. Forma parte de la piel, el pelo, los huesos y el tejido conectivo. Está formada por dos moléculas de cisteína (otro aminoácido que contiene azufre y que es muy similar), de hecho, la Cistina es considerada como la forma más estable de cisteína, aunque ambos pueden convertirse el uno en el otro si es requerido. La forma habitual administrada es la N-acetil cisteína que viene del amino ácido L-cisteína. La Cistina es un aminoácido no esencial, es decir que lo producimos en el cuerpo. Buenas fuentes de Cistina son los huevos, la carne, los lácteos y los cereales integrales.

2.3.1.9. VITAMINAS Y MINERALES

Al comparar el contenido de vitaminas de la semilla de chía con respecto al de otros cultivos tradicionales, se revela que el nivel de niacina(vitamina B3) es mayor que el de soja, arroz, cártamo y maíz, mientras que el nivel de retinol (vitamina A) es inferior al del maíz. Las concentraciones de riboflavina (vitamina B2) y tiamina (vitamina B1) son similares a las del maíz y del arroz, aunque menores que las de soja y cártamo. (Ayerza y Coates, 2009)

Tabla 5. Contenido de vitaminas presentes en la semilla de chía.

NUTRIENTE	SEMILLA DE CHÍA ENTERA
VITAMINAS (Mg/100g)	
Niacina	6.13
Tiamina	0.18
Riboflavina	0.04
Vitamina A	44 UI

Fuente: (Capitani, 2013).

2.3.1.10. FIBRA

Las semillas de chía producen entre 36 a 40 gr de fibra dietaria por cada 100g, lo que es equivalente al 100% de recomendaciones diarias para la población adulta. El contenido de fibra de la semilla de chía es de 18 a 30%, un valor alto en comparación con cereales

convencionales como la avena, maíz, trigo, cebada y arroz (ver tabla 2) el contenido de fibra en la harina residual luego de ser extraído su aceite, es aproximadamente de un 40%, del cual el 5% pertenece a fibra soluble, denominado mucilago. Su consumo resulta de ser una alternativa beneficiosa en la salud al mejorar la formación del bolo fecal y permitir una correcta evacuación de las heces, ayudando a prevenir enfermedades como el cáncer de colon o la obesidad, controlando a su vez los elevados niveles de glucosa y colesterol en la sangre. La importancia que ha adquirido el consumo de fibra dietética (FD) en los últimos años, ha llevado a la industria alimentaria al desarrollo de nuevos alimentos, más saludables y con un alto contenido de fibra dietética, vitaminas y bajo tenor de colesterol (Capitani, 2013). La fibra soluble, que incluye a las pectinas, parte de las hemicelulosas, las gomas, los mucilagos y los poli y oligosacáridos forma un retículo en presencia de agua donde esta queda atrapada, generando soluciones de viscosidad variable. Al contrario, las fibras insolubles tales como la celulosa, algunos tipos de hemicelulosas y la lignina no forman soluciones viscosas; sin embargo, actúan como “esponja”, reteniendo el agua en su matriz estructural. La capacidad de retención de agua de las fibras solubles e insolubles por una parte frena el vaciamiento gástrico y estimula la saciedad y por otra parte aumenta el volumen del contenido intraluminal del intestino. Este último fenómeno resulta en la distensión de las paredes intestinales y en la consecuente aceleración del tránsito intestinal y colónico. (colt, 1992)

2.3.1.11. FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE

- Pectinas,
- Gomas,
- Mucilagos,
- Ciertos tipos de hemicelulosas solubles y Algunos polisacáridos de reserva de las plantas.

Abundante en frutas, vegetales de hoja, hortalizas y legumbres (25%-40% del total de la fibra dietética). Sufre un proceso de fermentación en el colon con producción de hidrógeno, metano, dióxido de carbono y ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos y metabolizados.

2.3.1.12. FIBRA DIETÉTICA INSOLUBLE

- Celulosa
- Lignina
- Algunas fracciones de la hemicelulosas.

Predomina en las hortalizas, verduras, leguminosas frescas y en los granos de cereal. Ayuda a la movilidad de los alimentos en el tracto intestinal y arrastran algunos compuestos

2.4. MUCILAGO.

Los mucilagos son polisacáridos producidos por el metabolismo normal de ciertas plantas. Se trata de reversas nutritivas localizadas en las raíces, las hojas, los granos, etc. A veces se utilizan como agentes de retención de agua, es una sustancia vegetal viscosa, coagulable al alcohol, es una solución acuosa espesa de una goma o dextrina utilizada para suspender sustancias insolubles y para aumentar la viscosidad. Los mucílagos son análogos, por su composición y sus propiedades, a las gomas, dan con el agua disoluciones viscosas o se hinchan en ellas para formar una pseudodisolución gelatinosa. Se encuentran en las algas, semillas de lino (linaza), semillas de chía, en raíces de malva, membrillo, liquen, nopal, en ciertos hongos y en muchos otros vegetales. Proceden de las degradaciones de la celulosa, calosa, lignina y de las materias pépticas (Bradford, 2007). La estructura del polisacárido repercute en la solubilidad y las propiedades adhesivas del mucílagos. Los azúcares y el ácido galacturónico son compuestos que contienen funciones hidroxilos en gran cantidad, por ello estas materias son más o menos solubles o hinchables en agua, algunas forman gel, otras forman soluciones acuosas. La formación de la película se forma por evaporación de agua, esta película es quebradiza y con frecuencia se le añaden plastificantes. Son muy sensibles al ataque de microorganismos. En condiciones normales no ofrecen riesgo alguno para la salud.(Nobel, 2002).

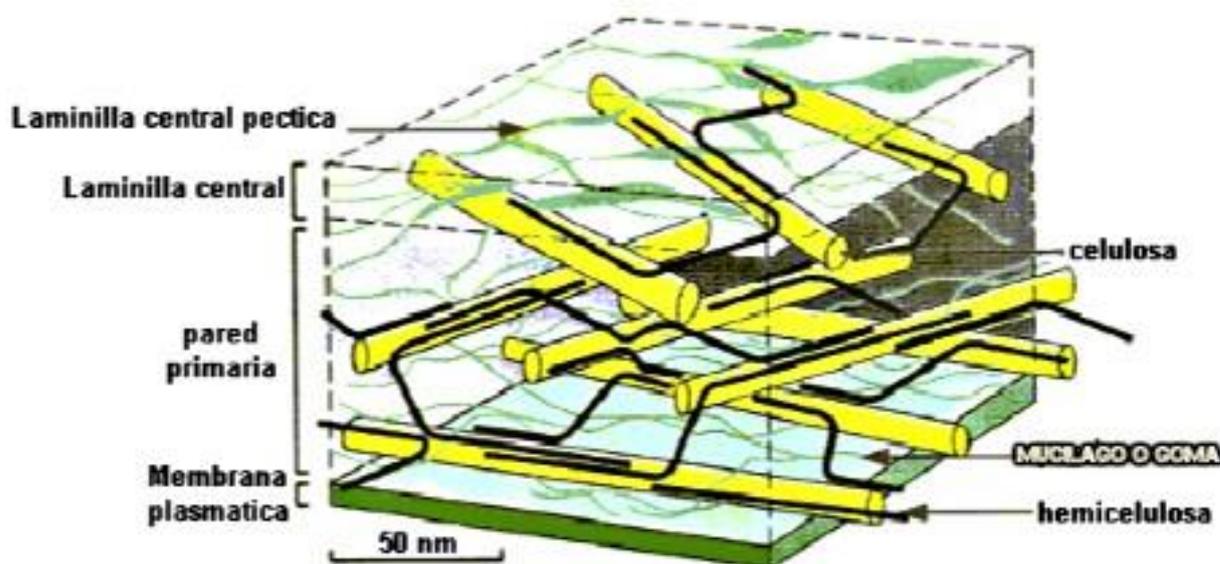


Figura 3. Ubicación del mucilago en un vegetal

El mucilago posee gran potencial como parte de la fibra dietaria y además absorbe gran cantidad de agua, formando coloides viscosos o gelatinosas, Está compuesto de porciones variables de L-arabinosa, D-galactosa, L-Xilosa, y ácido galacturónico, esta última representa del 18 a 25 % de los residuos, dependiendo si el mucilago proviene de frutas, La estructura molecular primaria es una cadena lineal conteniendo ácido galacturónico ramnosa y galactosa, al cual los residuos de xilosa y arabinosa están unidos en posiciones periferales. El mucílago puede usarse como agente espesante en productos alimenticios y farmacéuticos. Se reportó que el contenido de mucilago del cactus varía con la especie y además es influenciado por la temperatura y la irrigación. Las pectinas de alto metóxilo forman geles termoestables cuando el pH es bajo (menos de 3.5) y la concentración de azúcar es alta (contenido de materia seca mayor al 60%). El pH y el contenido de materia seca, más que la fuerza del gel, afectan la tasa de gelificación. Las pectinas en general son termorreversibles. Sin embargo, las pectinas de bajo metóxilo no amidadas pueden formar geles termoestables. La formación de gel no es la única función de las pectinas: las pectinas de alto metóxilo son excelentes estabilizadores de bebidas de leche ácida. Recubren las partículas de caseína, evitando que se acumulen y previniendo problemas de sedimentación. Las pectinas de alto

metóxilo pueden proporcionar una amplia variedad de texturas y propiedades reológicas, dependiendo de la concentración de calcio y de la reactividad del calcio de la pectina elegida. Las pectinas de alto metóxilo también son viscosificadores muy atractivos para bebidas gaseosas. Aquí, la pectina construye una sensación en boca similar a la de los jugos de fruta, y es por lo tanto útil en jugos artificiales, y en bebidas bajas calorías o dietéticas. Además, las pectinas de alto metóxilo tienen la ventaja de brindar una liberación de sabor muy limpia. En este caso, la viscosidad es creada simplemente por el comportamiento de la pectina en la solución (Bradford, 2007).

2.4.1. PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS DE LOS MUCILAGOS Y GOMAS

Para obtener un mucilago con características adecuadas se debe tener en cuenta que el mucilago es una fibra soluble que en contacto con el agua forman un retículo donde esta queda atrapada originando soluciones de gran viscosidad y para conocer el efecto de gelificación se debe conocer los siguientes parámetros.

2.4.2. PESO EQUIVALENTE

El peso equivalente es el número de cargas negativas libres de los ácidos carboxílicos de la molécula de la goma o mucilago el peso equivalente está asociado con la cantidad de grupos carboxílicos libres que conforman la cadena de pectina y que los mismos aumentan con el estado de maduración de la fruta, los carboxílicos libres al reaccionar con la base adicionada, su grupo funcional carboxilo COOH, sufre separación del protón debido a la acción de la base (Suarez, 2014)

2.4.3. GRADO DE METÓXILO

Metóxilo es un grupo funcional o radical consistente en un grupo metilo unido a un oxígeno. El grado de metóxilo es la relación de grupos ácido galacturónico metoxilados totales en el entendido de que el ácido galacturónico solo está parcialmente esterificado (Chevalier, 2016). Las moléculas de ácido D-galacturónico que conforman la estructura molecular de una sustancia péctica pueden presentar grupos Metil-Ester, la cantidad de estos grupos funcionales permiten evaluar la facilidad de formar geles, clasificarla como Bajo Metóxilo (LM), o de Alto Metóxilo (HM), además de determinar la sensibilidad de la pectina a la presencia de los cationes polivalentes (Suárez y Orozco, 2014)

Las pectinas están clasificadas como de alto Metóxilo (HM) y bajo Metóxilo (LM) pectinas, dependiendo del grado de esterificación. La separación entre HM y LM es arbitraria del 40 al 50% de grado de esterificación.

a. PECTINAS DE ALTO METÓXILO

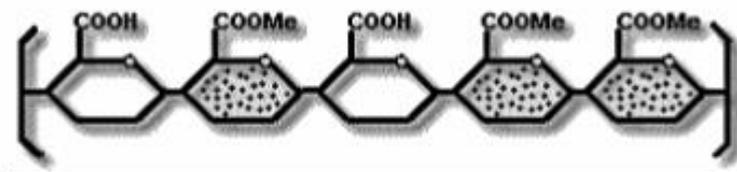
Posee un grado metoxil de al menos 70%, forman geles al adicionarles ácidos y azúcares entre un pH de 3.0 a 3.4 y a temperaturas relativamente elevadas. La cantidad de ácido es proporcional al porcentaje de carboxilos.

b. PECTINAS DE BAJO METÓXILO

Aquellas que poseen un grado metoxil de al menos de 50%. No forman geles en presencia de azúcar y ácido pero si con iones de calcio y otros cationes polivalente, la fuerza de los geles ligados de esterificación. (Suárez y Orozco, 2014). Las pectinas son polímeros del ácido galacturónico cuya estructura es la siguiente:

PECTINAS DE ALTO GRADO METOXILO (CooMe)
SU GRADO DE ESTERIFICACION (GE) ES SUPERIOR AL 50%

Por ejemplo esta pectina tiene 60% GE



PECTINAS DE BAJO GRADO METOXILO
SU GRADO DE ESTERIFICACION (GE) ES INFERIOR AL 50%

Por ejemplo esta pectina tiene 40% GE

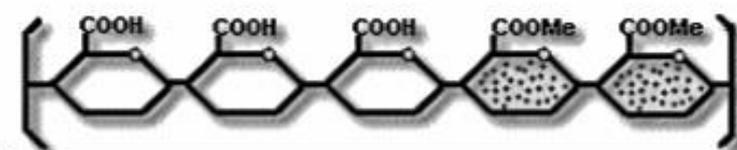


Figura 4. Pectinas de alto y bajo grado de metóxilo

2.4.4. ÁCIDO GALACTURÓNICO

El ácido galacturónico es un compuesto químico que forma parte del ácido urónico. Encontramos ácido galacturónico en la pectina de las frutas, una molécula contenida en su piel que le aporta rigidez. El AG por ser un azúcar, una forma oxidada de la D-galactosa, estará acompañado de azúcares neutros como, L-arabinosa, L-ramosa, D-galactosa y de algunas impurezas arrastradas en las extracciones y para ello el AG no

sirve para definir la fuerza del precipitado y comprobar la pureza del producto La FAO, FDA. y UE indica que una goma de buena calidad no debe ser menor del 65 % y la USP establece como mínimo 74 % calculado en base seca. Valores menores son indicativo de que ha ocurrido una fragmentación de la pectina, ya sea por hidrólisis o acción enzimática (León, 2014).

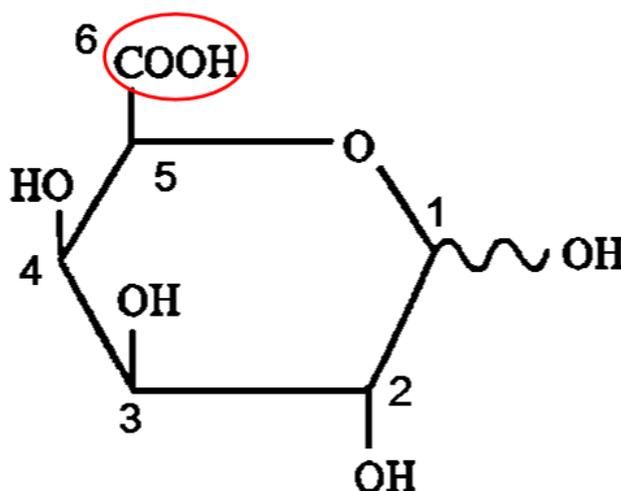


Figura 5. Ácido galacturónico

2.4.5. GRADO DE ESTERIFICACION

Los mucilagos son sustancias coloidales y constituidas en su mayoría, por cadenas de ácidos D-galacturónicos unidos por enlaces (1-4) con cadenas laterales de L.arabinosa y D-galactosa, y cuyos grupos carboxílicos pueden estar parcialmente metoxilados y parcial o totalmente neutralizados por bases. Un factor importante que caracteriza las cadenas de mucilagos es el grado de esterificación (DE) de los grupos carboxilos de los residuos de ácido urónico con alcohol metílico. Las pectinas probablemente se forman inicialmente en forma altamente esterificada, pero experimentan algo de desesterificación después de insertarse en la pared celular o lámina media. Hay una amplia gama de grados de esterificación dependiendo de especies, tejido y madurez. En general las pectinas del tejido tienen una gama de grados de esterificación que va del 60 al 90%. El grado de metilación tiene un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales. La reducción del grado de metilación tiene como consecuencia un aumento de la cohesión, que es particularmente evidente en tejidos calentados. El efecto

de fortalecimiento de los tejidos implica dos fenómenos separados. En tejido fresco, la formación de carboxilos libres incrementa las posibilidades y la fortaleza de los enlaces calcio entre polímeros. En los tejidos calentados se da la combinación de un incremento de los enlaces de calcio y un decremento de la susceptibilidad de la pectina a despolimerizarse por β -eliminación. (Van Buren, 1999)

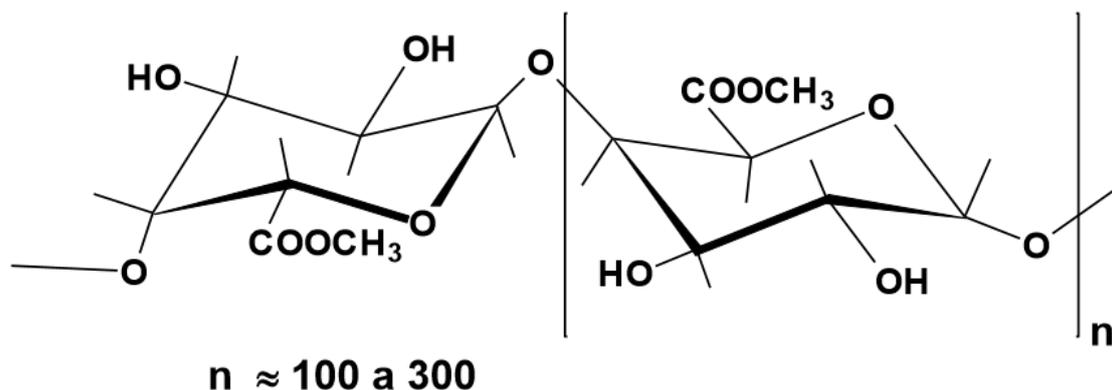


Figura 6. Cadenas de ácidos D-galacturónicos por enlaces (1-4)

2.5. ANTIOXIDANTES

Son conservadores naturales en los alimentos y en el organismo actúan como mecanismo de defensa contra los radicales libres (átomo o conjunto de átomos inestables con un electrón libre) al neutralizar su acción oxidante, evitando las alteraciones de moléculas con funciones vitales como: proteínas, lípidos, ADN, etc. El radical libre tiene una vida media biológica de microsegundos, no obstante posee la capacidad de reaccionar con todo lo que se encuentre a su alrededor, provocando daños significativos a moléculas, membranas celulares y tejidos. Sin embargo, el cuerpo produce radicales libres en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus, además de tener funciones fisiológicas importantes, el problema radica solo cuando existe un exceso de estos en el cuerpo humano, se ha demostrado que la chía posee una fuerte influencia contra los radicales libres, explicando porque subproductos como la harina de chía tienen mayor tiempo de vida útil que las provenientes de otras oleaginosas, evitando su enranciamiento. La quercetina impide la oxidación de

proteínas, lípidos y ADN, siendo más efectivo que los flavonoles no-ortohidroxi. Los antioxidantes hacen que sea una fuente rica en omega-3, siendo el ácido cafeíco y clorogenico los responsables al momento de actuar contra la peroxidacion de los lípidos y los radicales libres. (Jaramillo, 2013)

Tabla 6. Concentración de antioxidantes en la semilla de chía

COMPONENTE	Mol/ kg de semilla
NO HIDROLIZADOS	
Ácido cafeíco	6.6×10^{-3}
Ácido clorogenico	7.1×10^{-3}
HIDROLIZADOS	
Miricetina	3.1×10^{-3}
Quercetina	0.2×10^{-3}
Kaempferol	1.1×10^{-3}
Ácido cafeíco	13.5×10^{-3}

Fuente: (Jaramillo, 2013)

2.6. APLICACIONES

Los mucílagos son fibras solubles, con la propiedad de hincharse con el agua y formar disoluciones coloidales o geles, característica ésta a la que deben la mayoría de sus propiedades y aplicaciones. En las plantas funciona como depósitos de agua gracias a su capacidad de retención, evitando así la deshidratación y favoreciendo la germinación. Cuando son muy abundantes, pueden fluir al exterior y por desecación en contacto con el aire se forman gomas sus usos van desde Emolientes y demulcentes: antiinflamatorios. Pueden usarse en uso externo (hematomas), en forma de cataplasma (vías respiratorias). En uso interno: antiinflamatorios de vías respiratorias, laxantes mecánicos.

- Capaces de retener el agua, impidiendo que se endurezca la materia fecal.
- Por geles o masas viscosas, lubricantes, facilitando el paso a través del intestino.
- Al retener el agua, hinchan y presionan sobre las paredes intestinales y con ello aumenta el peristaltismo.
- Protectores de la mucosa gástrica.

- Emulsificantes: Debido a que soluciones acuosas del mucílago de semilla de *Salvia hispánica* L. permite estabilizar cremas, champo, etc.
- El gel o mucílago presente en la Chía puede reducir la cantidad de aceite o huevo dentro de la matriz, sin cambios organolépticos significativos (mejora el rendimiento en la panificación alta absorción de agua y el perfil nutricional)
- Fuerte espesante
- Estabilizante
- Formador de geles
- Rellenos para pasteles y pies
- Aderezos para ensaladas
- Leches saborizadas
- Previene la formación de cristales de hielo en helados durante el almacenamiento
- Pudines instantáneos
- Aplicaciones industriales como Mermeladas y gelatinas
- El mucilago y gomas son utilizados en alimentos congelados para retrasar la formación y crecimiento de cristales, así como la pérdida de consistencia y de la forma del producto cuando se descongela.
- En los zumos de frutas el mucilago cumple el papel de evitar que los fragmentos de pulpa sedimenten en los envases dando lugar a la formación de pulpa endurecida difícil de dispersar por agitación.
- En farmacéutica los mucilagos y gomas en combinación con la gelatina se utilizan para la encapsulación de fármacos de liberación sostenida.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en las siguientes instalaciones de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno:

- Laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial
- Laboratorio de análisis de alimentos de la Facultad de Ingeniería Química

3.2. MATERIA PRIMA

La materia prima utilizada fue la chía (*salvia hispánica* L.) variedad negra procedente del distrito de San Gabán, provincia de Carabaya departamento de Puno.

3.3 EQUIPOS

- Estufa (marca VACUCCELL)
- Balanza analítica (marca PIONER con 4 decimales de precisión con un máximo de 210 gr.)
- Termómetro de carátula marca KOCH
- pH-metro (INOLAB pH 730)
- Mufla (marca THERMO SCIENTIFIC con rango Temperatura 50°C a 1100°C)
- Autoclave (VERTICAL PRESSURE STEAM STERILIZER modelo LS – 850L –AA serie 186)
- Potenciómetro (marca INOLAB)

3.4. MATERIALES

- Vasos precipitados 80, 150, 250, 500 y 600 ml (PIREX)
- Tubos de ensayo con tapa (PIREX)
- Matraces de 250 y 500 ml (PIREX)
- Pipetas volumétricas 1,5 y 10 ml. (PIREX)

- Probetas de 10, 50, 250, 500 ml (PIREX)
- Termómetro (marca BOECO GERMANI modelo SH-135 con capacidad de -50 °C a 300 °C con precisión de un decimal).
- Papel filtro
- Mortero de porcelana con pistilo para uso de laboratorio.
- Embudo Buchner JIPO, 130 mm

3.5. REACTIVOS

- H₂SO₄ Químicamente Puro (concentración al 10%)
- NaOH 0,2 molar.
- Indicador rojo de fenol (solución de rojo de fenol 0,101 g más 28,2 ml NaOH 0,01 M y 250 ml de agua destilada).
- Etanol de 96° (de laboratorio ALKOFARMACIA, con contenido de 1 litro en recipiente de plástico).
- Agua destilada
- NaOH 0.25N
- HCL 0.25N
- NaOH 0.1N
- Indicador de Hinton de un purpura rojizo (magenta)

3.6. METODOLOGÍA DEL PROCESO EXPERIMENTAL

3.6.1. EXTRACCIÓN DE MUCILAGO

Para la extracción de mucilago de chía se utilizó 2 diferentes soluciones, H₂SO₄ e NaOH la relación de semilla: solución fue de 1:3 para lo cual se planteó dos variables experimentales: temperatura (70°C y 90°C) tiempo (15 minutos, 25 minutos y 35 minutos). Se realizó un Anova con (DCA) con un arreglo factorial de 2x2x3 para la evaluación de las condiciones de extracción de mucilago que incluyeron 36 corridas experimentales

3.6.2. METODOLOGÍA DE PROCESAMIENTO.

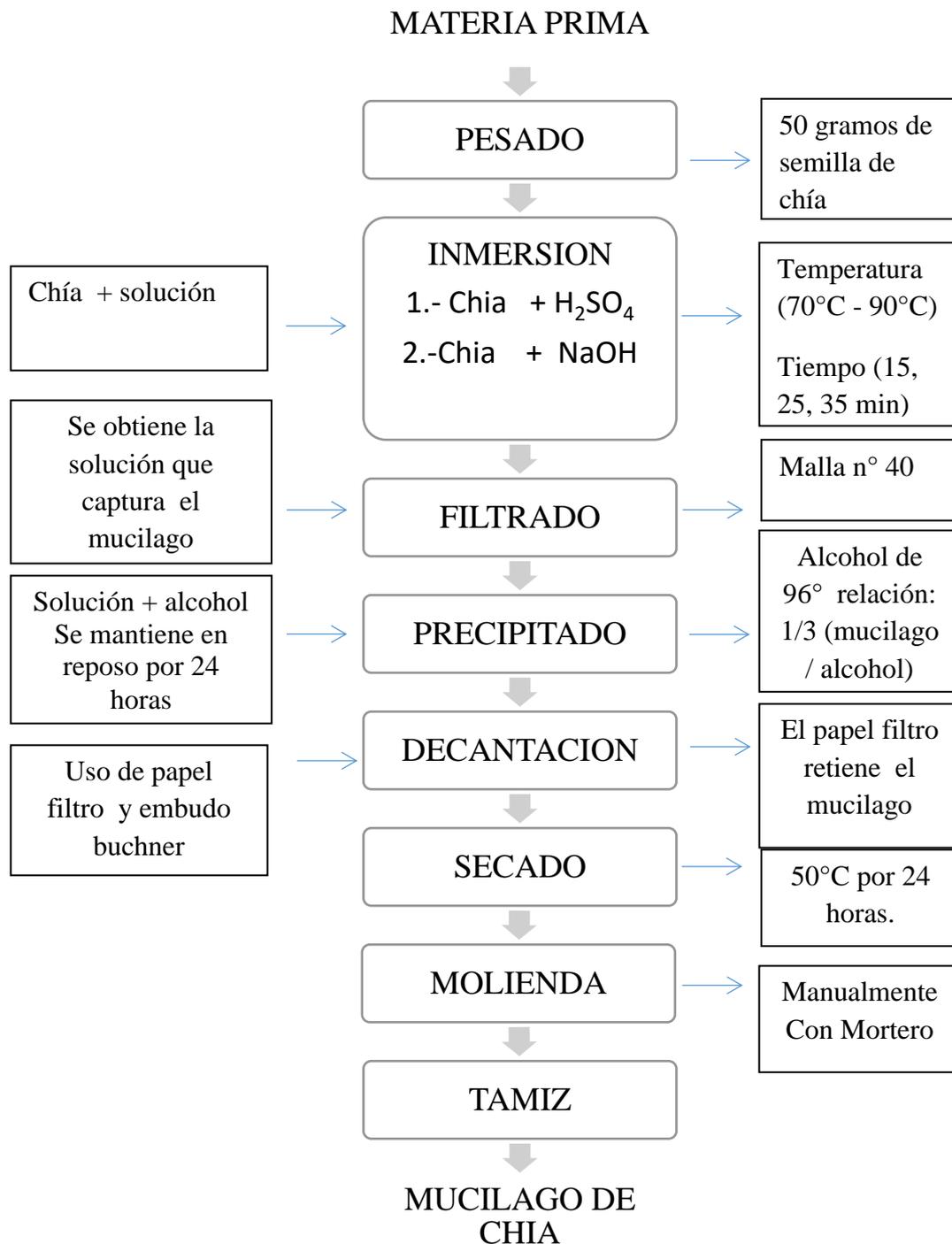


Figura 7. Proceso para la obtención del mucilago de chía

Fuente: Diagrama de flujo para la preparación de la muestra (mucilago de chía)

A continuación describimos las operaciones realizadas para la preparación de las muestras. Se utilizaron recipientes que tengan la capacidad mínima de 1 litro para las muestras con solución. El proceso de los tratamientos se inició con la selección de la materia prima, en términos sencillos semillas sin daño mecánico ni provocado por insectos. Posteriormente se llevó a cabo la extracción de mucilago o goma, para lo cual, se realizó una inmersión de las semillas en dos soluciones diferentes, a diferentes tiempos y temperaturas de contacto. Se trabajó con semillas comerciales del departamento de Puno y para la extracción del mucilago, se utilizaron soluciones de NaOH y H_2SO_4 , a temperaturas de $70^{\circ}C$ y $90^{\circ}C$; y tiempos de contacto de semilla: solución de 15 minutos, 25 minutos y 35 minutos, con una relación entre semilla y solución de 1:3

a. MATERIA PRIMA

Se verificó que las semillas de chía se encuentren en buen estado y en una medida uniforme en cuanto a tamaño y peso para ello escogimos la semilla de una manera visual.

b. PESADO

Una vez escogido la semilla se llevó a las mesas de trabajo para su debido pesado agrupándolos en 50 gr. de muestra de chía.

c. INMERSIÓN

Una vez teniendo las muestras de 50 gr. de chía realizamos la inmersión:

1. Inmersión de Chía + Solución (chía + H_2SO_4)
2. Inmersión de Chía + Solución (chía + NaOH)

Ponemos al baño maría a temperaturas de 70° y 90° durante los tiempos de 15, 25, 35 minutos.

d. FILTRADO

En este proceso de filtrado se obtiene la solución que captura el mucilago y se utilizó la malla número 40 agitando suavemente para hacer un filtrado correcto.

e. PRECIPITADO

Para el proceso de precipitado, se toma la muestra extraída y luego se agrega etanol de 96° en una relación de 1/3 (muestra/alcohol). Luego de esta precipitación se hace reposar en una refrigeradora durante 24 horas.

f. DECANTACIÓN

Para la separación del sólido se pasa al proceso de decantado utilizando el papel filtro y embudo buchner. El papel filtro retiene el mucilago de chía

g. SECADO

En esta operación de secado se pasa a una estufa a 50°C por 24 horas.

h. MOLIENDA

Previamente esterilizado el mortero se coloca las muestras de mucilago y se realiza la operación de molienda en el mortero. Para luego ser pesado el mucilago obtenido

i. TAMIZ

Para obtener granos más uniformes se realiza el tamizado.

j. MUCILAGO OBTENIDO

El mucilago obtenido se lleva a los laboratorios correspondientes para sus respectivos análisis

3.7. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para la preparación de las muestras utilizaremos recipientes que tengan la capacidad mínima de 1 litro para las muestras con solución para poder realizar los tratamientos necesarios.

Tabla 7. Preparación de muestras

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN	TIEMPO	TEMPERATURA
t ₁	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	15 MIN	70° C
t ₂	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	25 MIN	70°C
t ₃	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	35 MIN	70°C
t ₄	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	15 MIN	90°C
t ₅	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	25 MIN	90°C
t ₆	50 gr de semilla / H ₂ SO ₄ en inmersión	35 MIN	90°C
t ₇	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	15 MIN	70° C
t ₈	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	25 MIN	70°C
t ₉	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	35 MIN	70°C
t ₁₀	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	15 MIN	90°C
t ₁₁	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	25 MIN	90°C
t ₁₂	50 gr de semilla / NaOH en inmersión	35 MIN	90°C

Fuente: Elaboración Propia.

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se aplicó dos soluciones H_2SO_4 y $NaOH$, en inmersión entre 15 min, 25 min, 35 minutos (3 niveles) a $70^\circ C$ y $90^\circ C$ (2 niveles). A estas 12 unidades experimentales se hizo dos repeticiones donde se le determinara el rendimiento en peso, tiempo y temperatura de las soluciones sus propiedades fisicoquímicas (rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo, ácido galacturónico, grado de esterificación). Se realizó un anova con (DCA) con un arreglo factorial de $2 \times 2 \times 3$ para la evaluación de las condiciones de extracción de mucilago que incluyeron 36 corridas experimentales.

3.8.1. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES DE ESTUDIO.

3.8.1.1. FACTORES EN ESTUDIO:

Para el proyecto de investigación se detalla los factores y los niveles de cada factor y posteriormente los análisis físico químicos que se realizaron al mucilago de chíá.

Tabla 8. Factores en estudio

FACTORES	NIVELES
Solución	H_2SO_4 (QP al 10%)
	$NaOH$ (0,2 molar)
Temperatura	$70^\circ C$
	$90^\circ C$
Tiempo	15 minutos
	25 minutos
	35 minutos

Fuente: Elaboracion Propia.

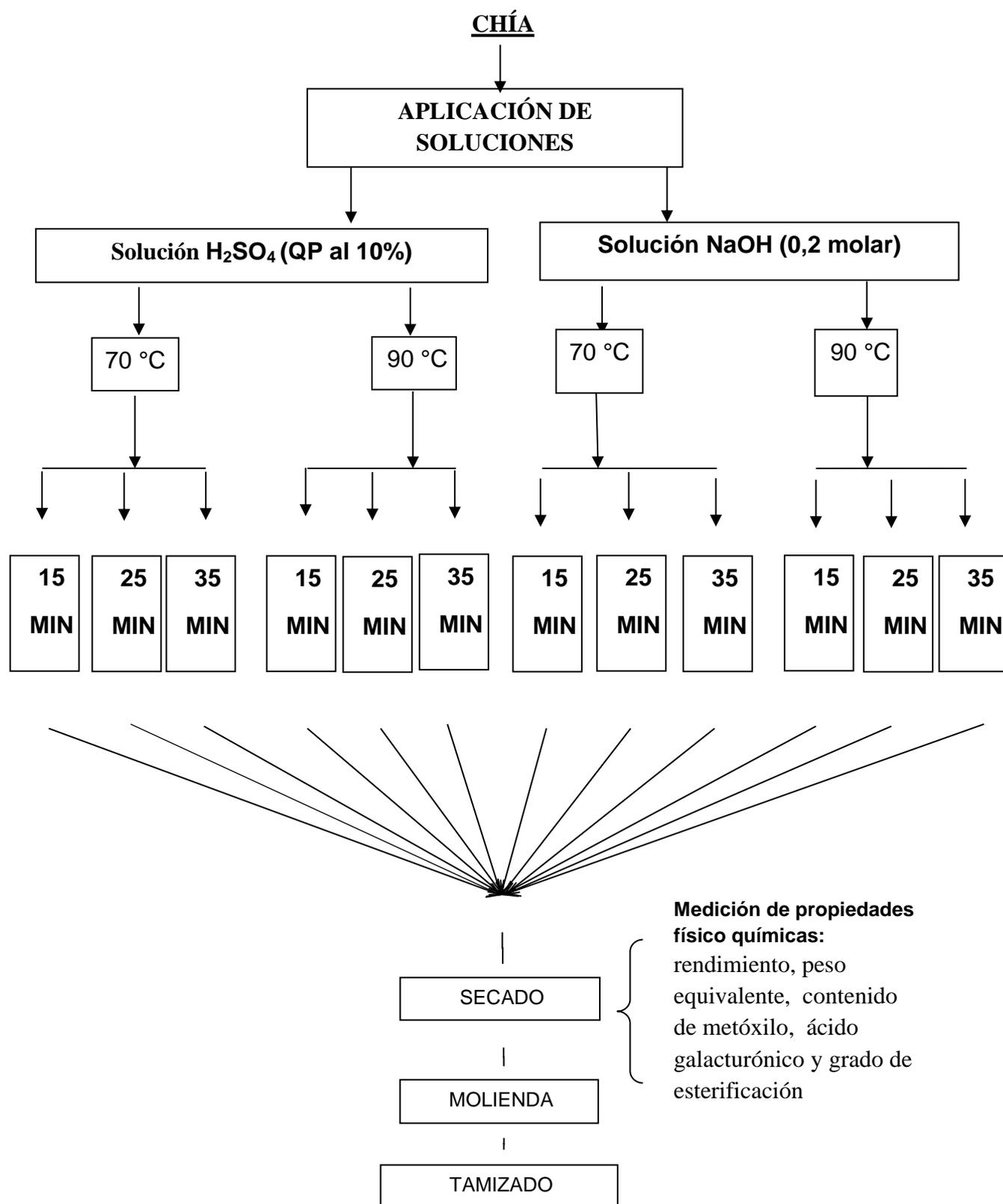


Figura 8. Flujo experimental de la presente investigación.

3.8.1.2. VARIABLES INDEPENDIENTES

- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio
- Temperatura (70°C y 90°C)
- Tiempo (15 min, 25 min, y 35 min.)

3.8.1.3. VARIABLES DEPENDIENTES

- Rendimiento (peso, tiempo y temperatura.)
- análisis de las propiedades fisicoquímicas, rendimiento, peso equivalente
Contenido de metóxilo, ácido galacturónico, grado de esterificación.

3.9. DISEÑO ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis estadístico a través de la aplicación de un diseño experimental del diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de $2 \times 2 \times 3 = 12$ tratamientos con dos repeticiones se utilizó el Sistema Análisis Estadístico (SAS, 2002), teniendo un total de 36 unidades experimentales cuyo **modelo aditivo lineal** es:

$$Y_{ijk} = M_{ijk} + P_i + C_j + T_k + (PC)_{ij} + (PT)_{ik} + (CT)_{ik} + (FPQ)_{ijk} + E_{ijk}$$

Donde:

M_{ijk} = Constante.

P_i = chía (salvia hispánica)

C_j = Factor temperatura 70°C y 90°C

T_k = Factor tiempo de reposo (15 min, 25 min, 35 min)

$(PC)_{ij}$ = Interacción entre la semilla de chía y temperatura de inmersión

$(PT)_{ik}$ = Interacción entre la semilla de chía y el tiempo de inmersión

$(CT)_{ik}$ = Interacción entre semilla de chía y tiempo de inmersión.

$(FPQ)_{ijk}$ = Interacción entre la semilla de chía, temperatura y tiempo de inmersión.

E_{ijk} = Error experimental

Se realizó la comparación múltiple de Tukey para ($Pr \leq 0.05$), para P (soluciones), C (temperatura) y T (tiempo).

También se realizó el respectivo análisis de varianza de efectos simples para la interacción P (solución) x C (temperatura), P (solución) X T (tiempo) y c (temperatura) x t (tiempo) para valores de probabilidad ($pr \geq f$) en el mucilago obtenido de chíca

Tabla 9. Descripción del análisis de varianza para el modelo estadístico.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F
Factor: P	SCP	P-1	CMP	CMP/ CMEE
Factor: C	SCC	C-1	CMC	CMC/ CMEE
Factor: T	SCT	T-1	CMT	CMT/ CMEE
Interacción: PXC	SCPC	(P-1)(C-1)	CMPC	CMPC/ CMEE
Interacción: PXT	SCPT	(P-1)(T-1)	CMPT	CMPT/ CMEE
Interacción: CXT	SCCT	(C-1)(T-1)	CMCT	CMCT/ CMEE
Interacción: CXTXP	SCCTP	(C-1)(T-1)(P-1)	CMCTP	CMCTP/ CMEE
Error experimental	SCEE	P x C x T(r-1)	CMEE	
TOTAL	SC Total	P x C x T x r		

3.10. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.10.1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

Los análisis de las propiedades fisicoquímicas que se realizó son; rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo, ácido galacturónico y grado de esterificación, se llevó a cabo utilizando el mucilago de chíá correspondiente a cada tratamiento, las muestras se analizaron 24 horas después de cada tratamiento de acuerdo al tipo de análisis y su requerimiento.

3.10.2. DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTO

Se determinó mediante el peso de la materia prima usada, en este caso el chíá, y el mucilago obtenido al final del proceso se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

3.10.3. DETERMINACIÓN DE PESO EQUIVALENTE

El peso equivalente es usado para calcular el contenido de ácido galacturónico y el grado de esterificación. Este es determinado por titulación con hidróxido de sodio a 7.5 de pH usando rojo de fenol o indicador de Hinton de acuerdo a la metodología de (Owens, Mecready, Shphert , & Shults, 1952).

- Pesar 0.5g de muestra de mucilago (libre de amonio y cenizas en un matraz Erlenmeyer con tapa de 250 ml. Humedecer con 5ml de etanol.
- Agregue un gramo de NaCl para hacer más notorio el punto final (agitar).
- Agregue 100ml de agua destilada libre de carbonatos, y 6 gotas de indicador de Hinton o Rojo de Fenol. Asegurarse de que toda la sustancia de mucilago este disuelta y que no haya grumos que se retengan en las paredes del matraz.
- Titular lentamente (para evitar una posible desestificación) con NaOH a 0.1N hasta el cambio de color del indicador (pH 7.5) este cambio debe persistir por lo menos 30s.

El indicador de Hinton de un purpura rojizo (magenta) en el punto final.

$$\text{peso equivalente} \left(\frac{\text{gr}}{\text{eq} - \text{gr}} \right) = \frac{\text{peso de la muestra} \times 1000}{\text{ml del cali} \times \text{normalidad}}$$

Esta solución neutralizada puede usarse para la determinación del contenido de metóxilo.

3.10.4. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE METÓXILO

El contenido de metóxilo es un factor importante en el control de tiempo de fraguado de pectinas, la sensibilidad de los cationes polivalentes y su utilidad en la preparación de geles solidos bajos, películas y fibras. Se determina mediante la saponificación de la pectina y la titulación del grupo carboxilo liberado (Owens, Mecready, Shphert , & Shults, 1952).

- Agregue 25 ml de NaOH 0.25N a la solución nutra procedente del peso equivalente.
- Agítese vigorosamente y déjala en reposo a temperatura ambiente con tapa, por 30 minutos en un matraz tapado.
- Agregue 25 ml de HCl 0.25N (o una cantidad equivalente a la base agregada y titule con NaOH 0.1N hasta el mismo punto final como anteriormente.

$$\% \text{ de contenido de metoxilo} = \frac{\text{ml del alcali} \times \text{normalidad de alcali} \times 3.1}{W_{\text{muestra}}}$$

3.10.5. DETERMINACIÓN DE ÁCIDO GALACTURÓNICO

La pectina, que es un poligalacturónico parcialmente esterificado contiene 10% o más del material orgánico compuesto de arabinosa, galactosa y azúcares. La estimulación del contenido del contenido de ácido galacturónico es esencial para determinar la pureza y el grado de esterificación además de evaluar las propiedades físicas.

a. PROCEDIMIENTO

Haciendo uso del peso equivalente, contenido en metóxilo y los datos de la alcalinidad de las cenizas calcular el ácido galacturónico de la expresión dada a continuación (Owens, Mecready, Shphert , & Shults, 1952).

$$\% \text{ AG} = 176 \times \frac{(\text{meq alcali peso equivalente} + \text{meq alcali saponificacion} + \text{meq cenizas titulables})}{\text{peso de ma muestra (mg)}} \times 100$$

3.10.6. DETERMINACIÓN DE GRADO DE ESTERIFICACIÓN

Depende del ácido galacturónico (AUA) y metóxilo según el método de Doesburg (1965) citado por León and Riveros (2014).

$$\%GE = \frac{\% \text{ metoxilos } \times 176 \times 100}{\% AG \times 31}$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTO

En la tabla de resultados mostrado en el anexo 8 tabla 20 se presentan los resultados obtenidos del rendimiento y en la tabla N°10 se presentan los resultados del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia del 5% en donde se observa que la solución, temperatura, tiempo y las interacciones entre ellas (solución - temperatura), (solución - tiempo), (temperatura - tiempo), (solución - temperatura - tiempo) afecta significativamente al rendimiento ($P \leq 0,05$), con un 95% del nivel de confianza, superior al 70% lo que nos indica un ajuste adecuado del modelo (Ibáñez, 2009).

Tabla 10. Análisis de varianza para rendimiento.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	FC	SIG.
TRATAMIENTOS COMBINADOS	1	95.11	8.65	216.25	**
FACTOR: SOLUCIÓN	1	4.59	4.59	114.75	**
FACTOR: TEMPERATURA	1	39.08	39.08	977.00	**
FACTOR: TIEMPO	2	35.10	17.55	438.75	**
INTERACCIONES					
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA	1	1.30	1.30	32.50	**
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TIEMPO	2	3.58	1.79	44.75	**
INTERACCIÓN: TEMPERATURA X TIEMPO	2	8.00	4.00	100.00	**
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA X TIEMPO	2	3.46	1.73	43.25	**
ERROR EXPERIMENTAL	2	0.99	0.04		
TOTAL (CORREGIDO)	3	96.10			

Fuente: Elaboración Propia.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} (100\%)$$

$$C.V. = 1.83\%$$

Realizado el ANOVA con el arreglo factorial 3ⁿ Los valores estadísticos de cada uno de los factores. (Solución, Temperatura, Tiempo y sus Interacciones Solución–Tiempo, Solución-Temperatura, Tiempo-Temperatura y Solución–Temperatura-Tiempo) en todos los casos para el rendimiento resulto ser altamente significativos puesto que estos valores son menores que 0.05, La grafica de rendimiento en la figura 5 nos muestra que a mayor temperatura y a mayor tiempo el rendimiento fue mayor, estos resultados corroboran nuestros resultados obtenidos. Tal como lo demuestra diversos estudios de comparación de temperaturas El mayor rendimiento se encuentra entre los 85°C a 90°C en tiempos de 30 minutos a 45 minutos y los más bajos rendimientos en 70°C a 30 minutos. A mayores temperaturas el rendimiento fue mayor tal como lo demuestran los diversos estudios de comparación de temperaturas de extracción de pectina. Donde hasta cierto tiempo va liberando del tejido vegetal pectina soluble (ácido urónico) sin degradar su molécula, luego pasado este limite la proporción de dichos ácidos decrece afectando al rendimiento así lo demuestra el estudio “análisis y determinación de la temperatura y tiempo en la extracción acida de la pectina del sancayo (*lobivia maximiliana*) realizado por (Nina, 2016)

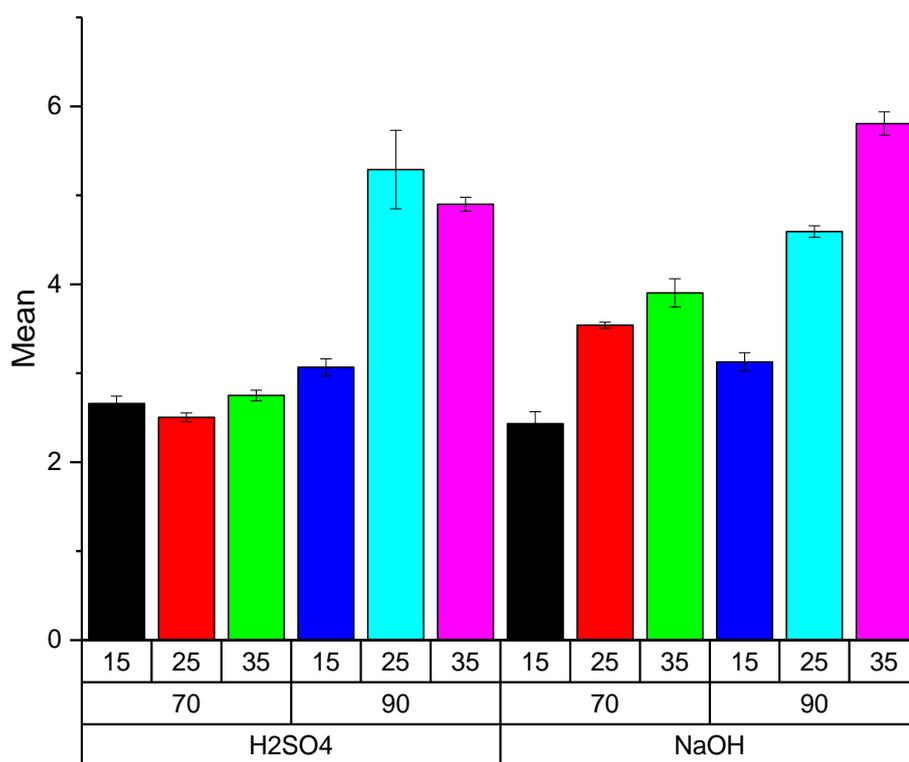


Figura 9. Gráfica de rendimiento.

En la gráfica de contornos y superficie de respuesta (ver anexo 2 figuras 14 y 15) se observa que el mayor rendimiento se encuentra a los 90°C en tiempo de 35 minutos y los más bajos rendimientos en 70°C en tiempos de 15 minutos. A mayor temperatura y a mayor tiempo de extracción el rendimiento fue mayor. Tal como lo demuestra el estudio de comparación de temperaturas de extracción de mucilago de chíá cuando el mayor rendimiento se obtiene al usar NaOH a 90°C, pero que no existen diferencias en cuanto al tiempo de contacto, ya que este es igual para 15 y 25 minutos, alcanzando 32,4 % respecto del peso de semilla, al utilizar H₂SO₄ como medio de extracción. Los valores obtenidos por la extracción ácida, demuestran un menor rendimiento, notándose la insignificancia de los valores a 70°C. También se ve que el mejor tratamiento es a 25 minutos con 90°C. (Martínez, 2007).

4.2. DETERMINACIÓN DE PESO EQUIVALENTE

En la tabla de resultados mostrado en el anexo 8 tabla 20 se presentan los resultados obtenidos del peso equivalente y en la tabla N°11 se presentan los resultados del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia del 5% en donde se observa que la solución no es significativa, de modo contrario la temperatura es altamente significativo lo que quiere decir que para la determinación de peso equivalente la temperatura si afecta a la determinación de peso equivalente, el factor tiempo tiene un valor significativo y las interacciones entre ellas (solución - temperatura), (solución - tiempo) no tienen valores significativos y las interacciones (temperatura - tiempo), (solución - temperatura - tiempo) afectan significativamente a la determinación de peso equivalente ($P \leq 0,05$), con un 95% del nivel de confianza, superior al 70% lo que nos indica un ajuste adecuado del modelo (Ibáñez, 2009).

Tabla 11. Análisis de varianza para el peso equivalente.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	FC	SIG
TRATAMIENTOS COMBINADOS	1	1,851.156.40	168.286.95	9.49	**
FACTOR: SOLUCIÓN	1	15.025.20	15.015.20	0.85	N.S.
FACTOR: TEMPERATURA	1	1.153.290.60	1.153.290.60	65.01	**
FACTOR: TIEMPO	2	187.612.00	93.806.00	5.29	*
INTERACCIONES					
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA	1	58.205.20	58.205.20	3.28	N.S.
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TIEMPO	2	77.856.40	38.928.20	2.19	N.S.
INTERACCIÓN: TEMPERATURA X TIEMPO	2	186.093.00	93.04.60	5.25	*
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA X TIEMPO	2	173.074.00	86.537.00	.88	*
ERROR EXPERIMENTAL	2	425.750.00	17.739.60		
TOTAL (CORREGIDO)	3				

Fuente: elaboración propia.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} (100\%)$$

$$C.V. = 7.83\%$$

Los valores en la tabla n°11 prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que se tiene valores menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Peso Equivalente. A medida que aumenta la temperatura en tiempos < 60 minutos el peso equivalente es mayor hasta cierta temperatura donde a partir de ella comienza a decrecer y a tiempos de 60 minutos el comportamiento es más decreciente debido a que la hidrólisis produce consecuente ruptura de la cadena glucosídica α (1 – 4), despolimerización de la pectina y decarboxilación con formación de CO₂ y furfural y bajas temperaturas predomina la saponificación eso demuestra la investigación denominada: Obtención y caracterización de pectina a partir de la cascarilla de cacao del (*theobroma cacao* L) por (Suarez, 2014).

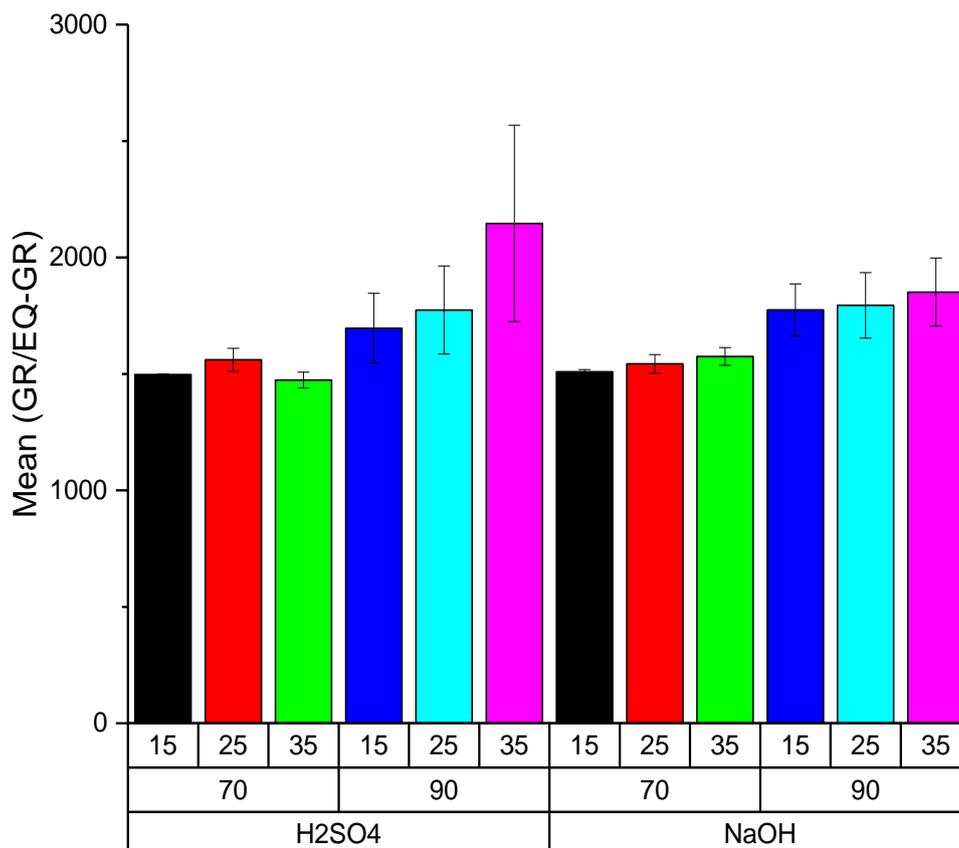


Figura 10. Gráfica de superficie de peso equivalente.

En la gráfica de contornos y superficie de respuesta (ver anexo 3 figuras 16 y 17) se observa que los valores más elevados se encuentran a temperatura de 90°C y con la solución de H₂SO₄ independientemente del tiempo el valor más alto obtenido es 2623.67 gr/eq-gr en 35 minutos, 90°C y solución H₂SO₄ y el menor valor obtenido es 1435.24 gr/eq-gr en 35 minutos, 70°C y solución NaOH. A medida que aumenta la temperatura a tiempos mayores de 70°C el peso equivalente es mayor. Tal como lo demuestran otros estudios, donde a temperaturas de 80°C, independientemente del tiempo se obtuvo los valores más altos (> 1700 gr/eq-gr) y los valores más bajos (<1400 gr/eq-gr) están en 90°C por 55 y 60 minutos. (Nina, 2016).

4.3. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE METÓXILO

En la tabla de resultados mostrado en el anexo 8 tabla 20 se presentan los resultados obtenidos del rendimiento y en la tabla N°12 se presentan los resultados del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia del 5% en donde se observa que los factores solución, temperatura y tiempo son altamente significativos para la determinación de contenido de metóxilo y las interacciones entre ellas (solución - temperatura) tiene valor significativo, las interacciones (solución - tiempo), (temperatura - tiempo), (solución - temperatura - tiempo) no tienen valores significativos para la determinación de contenido de metóxilo ($P \leq 0,05$), con un 95% del nivel de confianza, superior al 70% lo que nos indica un ajuste adecuado del modelo (Ibáñez, 2009). A medida que aumenta la temperatura y tiempo aumenta el contenido de metóxilo hasta cierto límite donde su valor decrece, este comportamiento es típico de la extracción de pectina por el método ácido (Catalán, 1964).

Tabla 12. Análisis de varianza para el contenido de metóxilo.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	FC	SIG.
TRATAMIENTOS COMBINADOS	1	26.6234	2.4203	32.6626	**
FACTOR: SOLUCIÓN	1	6.5921	6.5921	88.9622	**
FACTOR: TEMPERATURA	1	13.2314	13.2314	178.5614	**
FACTOR: TIEMPO	2	6.1159	3.0580	41.2686	**
INTERACCIONES					
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA	1	0.4258	0.4258	5.7463	*
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TIEMPO	2	0.0865	0.0433	0.5843	N.S.
INTERACCIÓN: TEMPERATURA X TIEMPO	2	0.1541	0.0771	1.0405	N.S.
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA X TIEMPO	2	0.0176	0.0088	0.1188	N.S.
ERROR EXPERIMENTAL	2	1.7791	0.0741		
TOTAL (CORREGIDO)	3	28.4025			

Fuente: elaboración propia.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} (100\%)$$

C.V. = 2.04 %

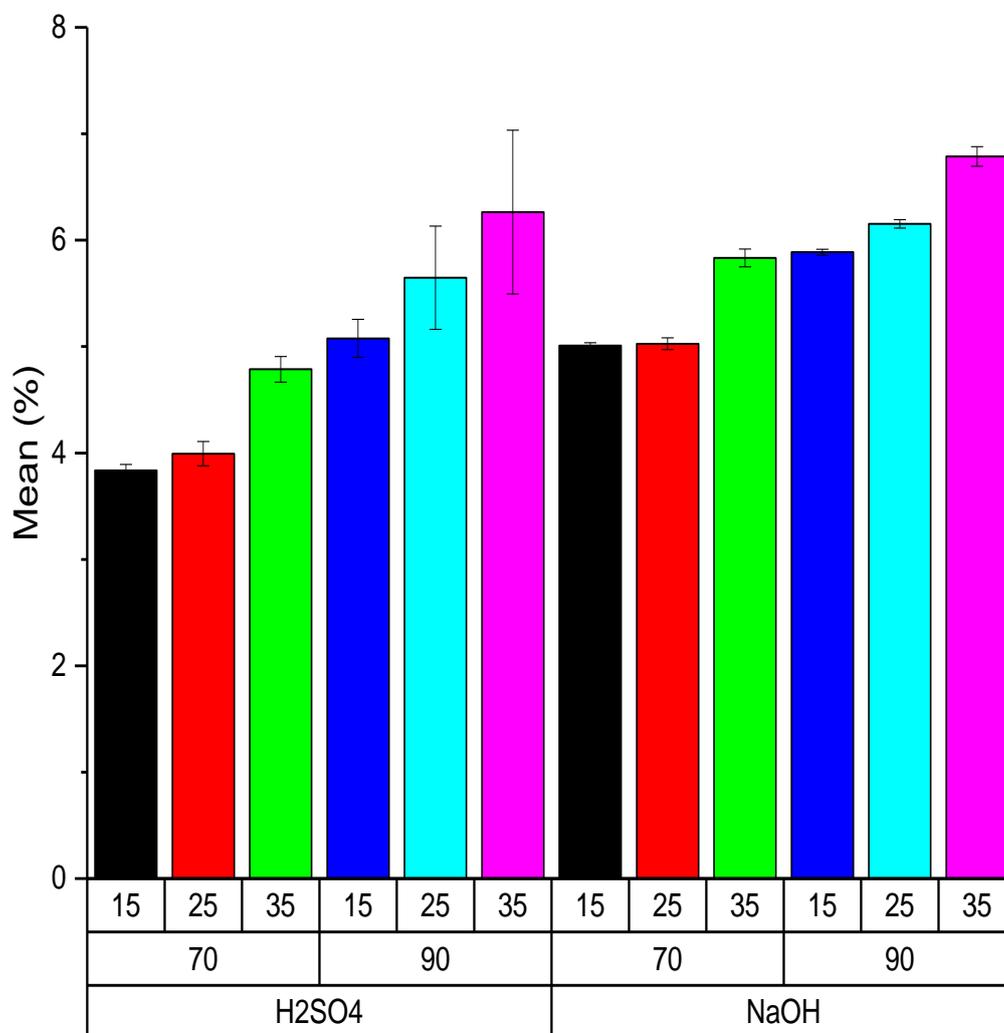


Figura 11. Gráfica de contenido de metóxilo.

En la gráfica de contornos y superficie de respuesta (ver anexo 4 figuras 18 y 19) se observa que el mayor valor de contenido de metóxilo 6.98 y se encuentra 90°C y 35 minutos con la solución de H₂SO₄ aunque los más altos valores se encuentran con la solución NaOH a 90°C en 35 minutos, los valores más bajos de contenido de metóxilo se encuentran con la solución H₂SO₄ a 70°C y 15 minutos teniendo como valor mínimo 3.78 en la solución H₂SO₄ a 70°C y 15 minutos.

4.4. DETERMINACIÓN DE ÁCIDO GALACTURÓNICO

En la tabla de resultados mostrado en el anexo 8 tabla 20 se presentan los resultados obtenidos de la determinación de ácido galacturónico y en la tabla N°13 se presentan los resultados del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia del 5% en donde se observa que el factor solución no tiene valores significativos, caso contrario a la temperatura que tiene valores altamente significativos, el factor tiempo no tiene valores significativos y las interacciones entre ellas (solución - temperatura), (solución - tiempo), (temperatura - tiempo), (solución - temperatura - tiempo) no tienen valores significativos para la determinación de ácido galacturónico ($P \leq 0,05$), con un 95% del nivel de confianza, superior al 70% lo que nos indica un ajuste adecuado del modelo (Ibáñez, 2009). Ya antes se había comprobado que a condiciones de extracción de 85°C por 60 minutos en cascara de plátano a pH altos (pH 3.00) se obtenía mayor contenido de ácido galacturónico que usando pH de 2.00 tal vez esto afecto en nuestro estudio donde se trabajó a pH 2.20 (Barazarte, 2006).

Tabla 13. Análisis de varianza para determinación de ácido galacturónico.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	FC	SIG.
TRATAMIENTOS COMBINADOS	1	99.7803	9.0709	1.5918	N.S.
FACTOR: SOLUCIÓN	1	15.1321	15.1321	2.6555	N.S.
FACTOR: TEMPERATURA	1	63.4412	63.4412	11.1330	**
FACTOR: TIEMPO	2	3.2854	1.6427	0.2883	N.S.
INTERACCIONES					
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA	1	2.6082	2.6082	0.4577	N.S.
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TIEMPO	2	6.4061	3.2031	0.5621	N.S.
INTERACCIÓN: TEMPERATURA X TIEMPO	2	8.7954	4.3977	0.7717	N.S.
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA X TIEMPO	2	0.1119	0.0560	0.0098	N.S.
ERROR EXPERIMENTAL	2	136.7630	5.6985		
TOTAL (CORREGIDO)	3	236.5433			

Fuente: elaboración propia.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} (100\%)$$

C.V. = 5.94 %

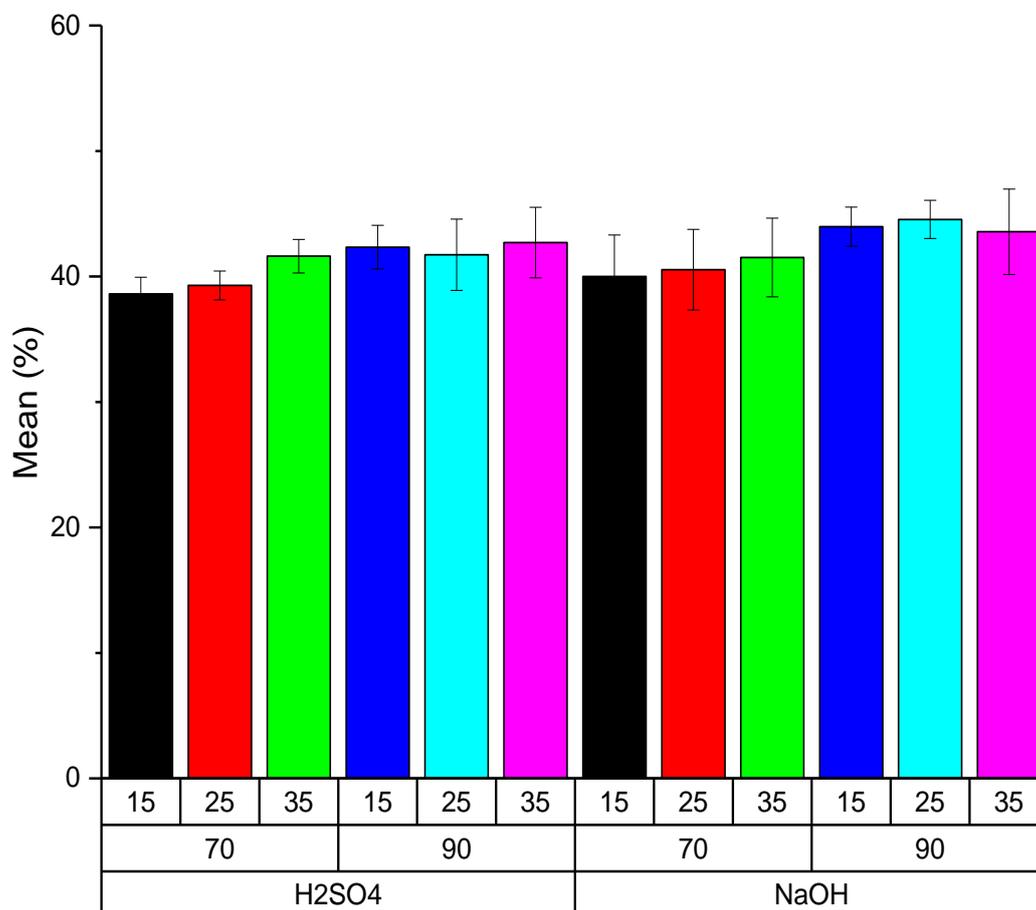


Figura 12. Contenido de ácido galacturónico.

En la gráfica de contornos y superficie de respuesta (ver anexo 5 figuras 20 y 21) como podemos observar en los gráficos las diferencias de contenido de ácido galacturónico con respecto al tiempo, temperatura y solución no están muy marcadas teniendo como más alto valor 46.17 con la solución NaOH a 90°C en 35 minutos y el valor más bajo de contenido de ácido galacturónico 36.90 con la solución NaOH a 70°C y 15 minutos. Otros estudios demuestran que a medida que aumenta la temperatura y el tiempo el contenido de ácido galacturónico también aumenta, esto debido a la mayor ruptura de los enlaces presentes en la protopectina provocando la liberación de las cadenas galacturónicas (Vásquez, 2008).

4.5. DETERMINACIÓN DE GRADO DE ESTERIFICACIÓN

En la tabla de resultados mostrado en el anexo 8 tabla 20 se presentan los resultados obtenidos de la determinación de grado de esterificación en la tabla N°14 se presentan los resultados del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia del 5% en donde se observa que los factores de: solución, temperatura, tiempo y las interacciones entre ellas (solución - temperatura) tienen valores altamente significativos, y las interacciones: (solución - tiempo) y (temperatura - tiempo) tienen valor significativos, lo contrario de la interacción (solución - temperatura - tiempo) que tiene valores no significativos para la determinación de grado de esterificación ($P \leq 0,05$), con un 95% del nivel de confianza, superior al 70% lo que nos indica un ajuste adecuado del modelo (Ibáñez, 2009).

Tabla 14. Análisis de varianza para el grado de esterificación.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	FC	SIG
TRATAMIENTOS COMBINADOS	1	53.19	4.84	121.00	**
FACTOR: SOLUCIÓN	1	6.52	6.52	163.00	**
FACTOR: TEMPERATURA	1	38.19	38.19	954.75	**
FACTOR: TIEMPO	2	3.42	1.71	42.75	**
INTERACCIONES					
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA	1	4.23	4.23	105.75	**
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TIEMPO	2	0.31	0.16	4.00	*
INTERACCIÓN: TEMPERATURA X TIEMPO	2	0.44	0.22	5.50	*
INTERACCIÓN: SOLUCIÓN X TEMPERATURA X TIEMPO	2	0.08	0.04	1.00	N.S.
ERROR EXPERIMENTAL	2	0.85	0.04		
TOTAL (CORREGIDO)	3	5.04			

Fuente: elaboración propia.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} (100\%)$$

C.V. = 0.32 %

El mayor valor del grado de esterificación se encuentra entre los 80°C – 85°C a tiempos < 35 minutos y 75°C a tiempos > 55 minutos dando valores de grado de esterificación > al 68% en esta región hay un porcentaje considerable de unidades carboxilos esterificados con alcohol metílico, los de menor grado de esterificación (menores a 52 %) se encuentran a temperaturas altas como 90 °C y tiempo de 60 minutos, esto debido al efecto de la elevada exposición de la temperatura y tiempo que influyen negativamente en los resultados finales, puesto que la pectina se desnaturaliza y las características de gelificación, dadas por los valores de grado de esterificación, disminuye esto se menciona en el estudio de “Uso potencial de la cascara de cacao (theobroma cacao l.) Como fuente de pectina” (Barazarte, 2006).

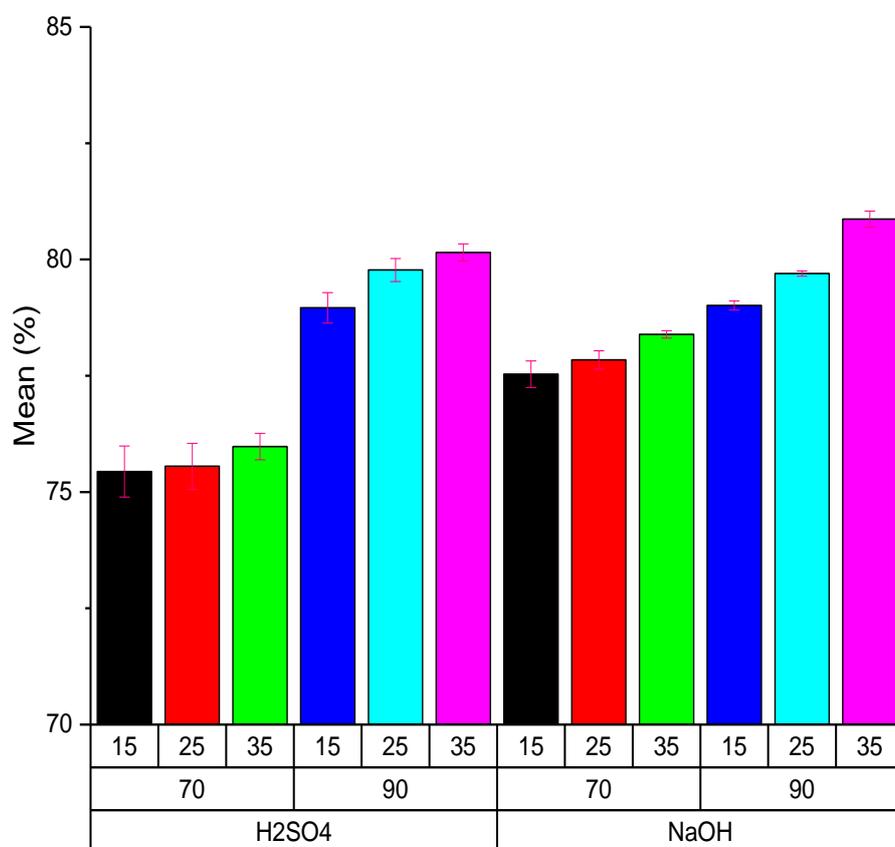


Figura 13. Análisis del contenido de grado de esterificación.

En la gráfica de contornos y superficie de respuesta (ver anexo 6 figuras 22 y 23) se observa que el mayor grado de contenido de grado de esterificación es 80.84 con la solución NaOH a 90°C en 35 minutos y el menor valor de grado de esterificación es 74.81 con la solución H₂SO₄ a 70°C y 15 minutos.

CONCLUSIONES

Los dos métodos de extracción tuvieron diferentes efectos frente a los análisis que se sometieron los tratamientos del mucilago de chíá. En cuanto a las soluciones se obtuvo mejores resultados respecto al rendimiento con la solución NaOH a una temperatura de 90°C y 35 minutos, en términos generales la solución hidróxido de sodio (NaOH) afecta significativamente al rendimiento por tener los más altos resultados, el valor máximo alcanzado fue 5.93% con la solución de NaOH a 90°C de temperatura y 35 minutos y un valor mínimo de 2.32% en la solución de NaOH a 70°C en 15 minutos todos estos resultados nos muestran que a mayor temperatura y a mayor tiempo el rendimiento fue mayor.

En el factor temperatura se tuvieron efectos significativos en todos los análisis estadísticos con una temperatura adecuada de extracción de 90°C teniendo un valor altamente significativo para las propiedades físico químicas afectando en el: rendimiento, peso equivalente, contenido de metóxilo, ácido galacturónico y grado de esterificación. En cuanto a las interacciones tuvo efectos altamente significativos para el rendimiento y para el grado de esterificación, en las interacciones (temperatura-tiempo) y (solución-temperatura-tiempo) se obtuvo efecto significativo en el peso equivalente y contenido de metóxilo en las demás interacciones su efecto no fue significativo.

El factor tiempo resulto con efectos diferentes frente a los análisis, el tiempo con mejores respuestas estadísticas fue de 35 minutos y desarrollo efectos significativos en el rendimiento, peso equivalente, metóxilo y grado de esterificación pero no tuvo efecto significativo en el ácido galacturónico. La interacción (solución – tiempo) tuvo efectos altamente significativos para el rendimiento y significativo para el grado de esterificación pero no tuvo efecto significativo para el peso equivalente, contenido de metóxilo y ácido galacturónico. La interacción (temperatura – tiempo) tuvo efectos altamente significativos para el rendimiento, significativo para peso equivalente y grado de esterificación pero no tuvo efecto significativo para el contenido de metóxilo y ácido galacturónico. La interacción (solución – temperatura – tiempo) tuvo efectos altamente significativos para el rendimiento, significativo para el peso equivalente y en las demás interacciones como el contenido de ácido galacturónico, contenido de metóxilo y grado de esterificación no tuvo efectos significativos.

RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar una extracción de mucilago de chía en el cual el medio solución sea el agua.
- ✓ Realizar análisis proteico y omegas al mucilago de chía después de su extracción.
- ✓ Ampliar el intervalo del factor temperatura para su mejor extracción.
- ✓ Ampliar el intervalo del factor tiempo para su mejor extracción.

REFERENCIAS

- AICR, W. (2007). *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective*. Washington DC: AICR, U.S.A.: American Institute for Cancer Research.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2009). Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica L.*) selections. *Industrial Crops and Products*, 30 321-324. doi: 10.1016/j.indcrop.2009.03.009
- Barazarte, H. (2006). Uso potencial de la cáscara de cacao (*theobroma cacao l.*) como fuente de pectina. (Tesis para optar al grado de magíster en ciencia de los alimentos), Universidad Simon Bolivar.
- Bautista justo, M., Castro Alfaro, A., Camarena Aguilar, E., Wrobel, k., Wrobel, k., guzman, G. A., Gamiño Sierra, Z., & Da Mota Zanela, V. (2007). Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)*, 57(1).
- Becker, W., Branca, F., Brasseur, D., Bresson, J.-L., Flynn, A., Jackson, A. A., Lagioui, P., Løvik, M., Mingrone, G., Moseley, B., Palou, A., Przyrembel, H., Salminen, S., Strobel, S., Van den Berg, H., & Van Loveren, H. (2005). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the safety of chia (*Salvia hispanica L.*) seed and ground whole chia seed as a novel food ingredient intended for use in bread. *The EFSA Journal*, 278, 1-12.
- Bradford, K. J., & Hiroyuki Nonogaki (Eds.). (2007). *Seed development, dormancy, and germination*. USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Capitani, M. I. (2013). Caracterización y Funcionalidad de Subproductos de Chía (*Salvia hispanica L.*) Aplicación en Tecnología de Alimentos. (Tesis Doctoral), Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Catalán, M. (1964). Extracción de sustancias pépticas de la remolacha. y factores que intervienen en la calidad del producto obtenido. Estacion experimental de aula del Zaragoza.
- Celli, M. G., Perotto, M. C., Martino, J. A., Flores, C. R., Conci, V. C., & Rodriguez Pardina, P. (2014). Detection and Identification of the First Viruses in Chia (*Salvia hispanica*). *Viruses*, 6, 3450-3457. doi: 10.3390/v6093450

- Chevalier, C. (2016). Evaluación del efecto de tipo de ácido en el grado de metoxilación y pureza de pectina a partir de maracuya (*passiflora edulis*). (Tesis para optar el título de ingeniero agroindustrial), Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.
- Colt, lee (1992) Fibra Alimentaria, Mexico DF
- Curiel Velazquez, I., San Roman Barron, S., Balderas Escobedo, B., & Rodriguez Olivares, F. (2013) *Salviate: un producto natural a base de la semilla de chia*. Bolivia: Subdirección y/o Asistencia de Enlace Operativo en el Estado de San Luis Potosí.
- FAO. (2011). Nutritional requirements. Retrieved April 13, from <http://www.fao.org/ag/humannutrition/nutrition/en/>.
- González Ramos, V. (2011). Efecto Hipotensor e Inhibición de la Actividad de la Enzima Convertidora de Angiotensina I de Extractos de Semillas de *Salvia Hispanica* I in Vitro e in Vivo. (Maestro en Ciencias en Nutrición), Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey-Mexico.
- Guiotto, E. N., Ixtaina, V. Y., Tomás, M. C., & Nolasco, S. M. (2013). Moisture-Dependent Engineering Properties of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *Food Industry*, 281-397. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/53173>
- Hernández Gómez, J. A., & Miranda Colín, S. (2008). Caracterización Morfológica de Chía (*Salvia hispanica*). *Rev. Fitotec. Mex.*, 31(2), 105 - 113.
- Ibañez, V. (2009). Análisis y diseño de experimentos. Puno-Perú: Universidad Nacional del Altiplano.
- Jaramillo Garcés, Y. (2013). La chía (*Salvia hispanica* L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables. (Especialización en Alimentación y Nutrición), Corporación Universitaria Lasallista, Caldas- Antioquia.
- León, D., y Riveros, J. (2014). Extracción y caracterización química de las pectinas de las cáscaras del maracuyá amarillo (*passiflora edulis*, var *flavicarpa degener*), granadilla (*passiflora ligularis juss*) y tumbo serrano (*passiflora mollísima h.b.k. bailey*). (Tesis para optar el título profesional de ingeniero químico), Universidad Nacional Del Callao, Callao-Peru

- Martinez vasquez P. (2007) Comparación de tres métodos para la extracción de goma de la semilla de acacia de tres espinas (*gleditsia triacanthos* L.) Universidad de Chile Santiago - Chile
- Muñoz-Hernández, L. (2012). Mucilage from Chia Seeds (*Salvia hispanica*): Microestructure, Physico-Chemical Characterization and Applications in Food Industry. (Doctor in Engineering Sciences), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago-Chile.
- Nina paucar, W. (2016) Análisis y determinación de la temperatura y tiempo en la extracción ácida de la pectina de sancayo (*lobivia maximiliana*) Universidad Nacional del Altiplano Puno-Peru
- Nobel, P. S. (Ed.). (2002). *Cacti: biology and uses*: University of California Press.
- Ramírez-Jaramillo, G., & Lozano-Contreras, M. G. (2015). Potential for Growing *Salvia hispanica* L., Areas under Rainfed Conditions in Mexico. *Agricultural Sciences*, 6, 1048-1057.
- Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2014). Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. *Agricultural Sciences*, 5(3), 220-226.
- Suárez, D., y Orozco, D. (2014). Obtención y caracterización de pectina a partir de la cascarrilla de cacao del *theobroma cacao* L., subproducto de una industria chocolatera nacional. (Tesis para optar al título de químico industrial), Universidad Tecnológica de Pereira., Pereira.
- USDA. (2011). *National Nutrient Database for Standard Reference*. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research.
- Van Buren J. P. (1999). *The chemistry of texture in fruits and vegetables*, texture stud. Aspen publishers Inc. Gaithersburg, Maryland, USA.
- Vasquez, R., Ruesga, L., D'addosio, R., Páez, G., y Marín, M. (2008). Extracción de Pectina a partir de la cáscara de plátano (*Musa AAB*, subgrupo plátano) clon Hartón. Universidad del Zulia.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 15. Rendimiento (%)

Tratamientos	S1= solución H ₂ SO ₄					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	2.57	2.51	2.69	3.16	5.03	4.81
2	2.73	2.45	2.81	2.57	5.04	4.93
3	2.65	2.48	2.75	2.86	5.03	4.87
Tratamientos	S2= solución NaOH					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	2.32	3.52	3.77	3.23	4.66	5.67
2	2.58	3.58	4.08	3.02	4.53	5.93
3	2.45	3.55	3.92	3.12	4.59	5.80

Tabla 16. Peso equivalente (gramos / equivalente gramo)

Tratamientos	S1= solución H2SO4					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	1497.56	1504.34	1435.24	1588.58	1602.78	2623.67
2	1499.78	1578.55	1501.12	1867.45	1976.78	1987.67
3	1498.67	1541.445	1468.18	1728.015	1789.78	2305.67
Tratamientos	S2= solución NaOH					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	1499.56	1504.34	1535.24	1688.58	1667.78	1712.67
2	1519.67	1584.36	1610.78	1900.78	1945.78	2003.67
3	1509.61	1544.35	1573.01	1794.68	1806.78	1858.17

Tabla 17. Metóxilo (%)

Tratamientos	S1= solución H2SO4					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	3.89	4.12	4.91	4.88	5.17	5.45
2	3.78	3.90	4.67	5.23	6.14	6.98
3	3.83	4.01	4.79	5.05	5.65	6.21
Tratamientos	S2= solución NaOH					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	4.99	5.09	5.90	5.87	6.13	6.84
2	5.00	4.99	5.74	5.87	6.13	6.84
3	4.99	5.04	5.82	5.87	6.13	6.84

Tabla 18. Ácido galacturónico (%)

Tratamientos	S1= solución H2SO4					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	37.56	38.21	40.23	40.34	39.01	39.6
2	40.11	40.5	42.89	43.49	44.68	45.08
3	38.83	39.35	41.56	41.91	41.84	42.34
Tratamientos	S2= solución NaOH					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	36.90	37.45	38.1	42.6	43.02	39.71
2	43.47	43.87	44.26	45.66	46.05	46.17
3	40.18	40.66	41.18	44.13	44.53	42.94

Tabla 19. Grado de esterificación (%)

Tratamientos	S1= solución H ₂ SO ₄					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	74.88	75.03	75.67	79.34	79.98	80.12
2	75.98	76.01	76.23	78.76	79.50	79.98
3	75.43	75.52	75.95	79.05	79.74	80.05
Tratamientos	S2= solución NaOH					
	T°= temperatura 70°			T°= temperatura 90°		
	t1=15'	t2=25'	t3=35'	t1=15'	t2=25'	t3=35'
1	77.78	78.03	78.45	79.05	79.76	80.01
2	77.22	77.64	78.30	78.90	79.65	80.67
3	77.5	77.83	78.37	78.97	79.70	80.84

Anexo 2: Figuras del rendimiento

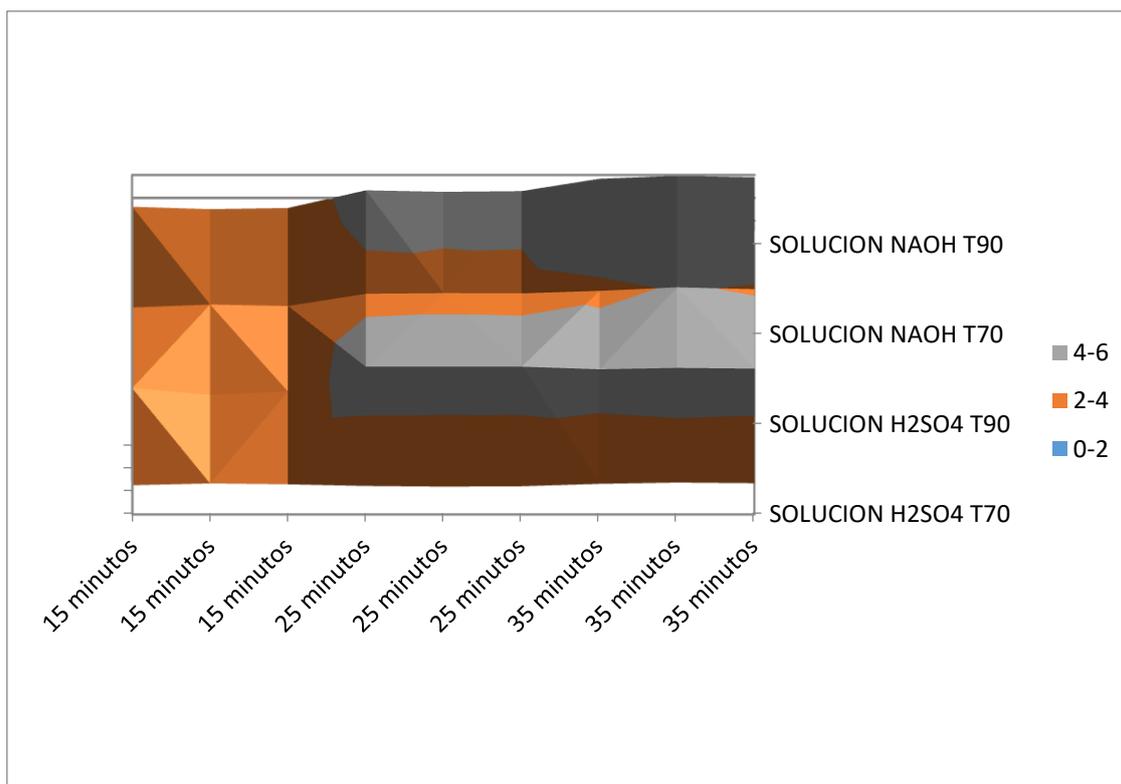


Figura 14. Gráfica de contornos de rendimiento.

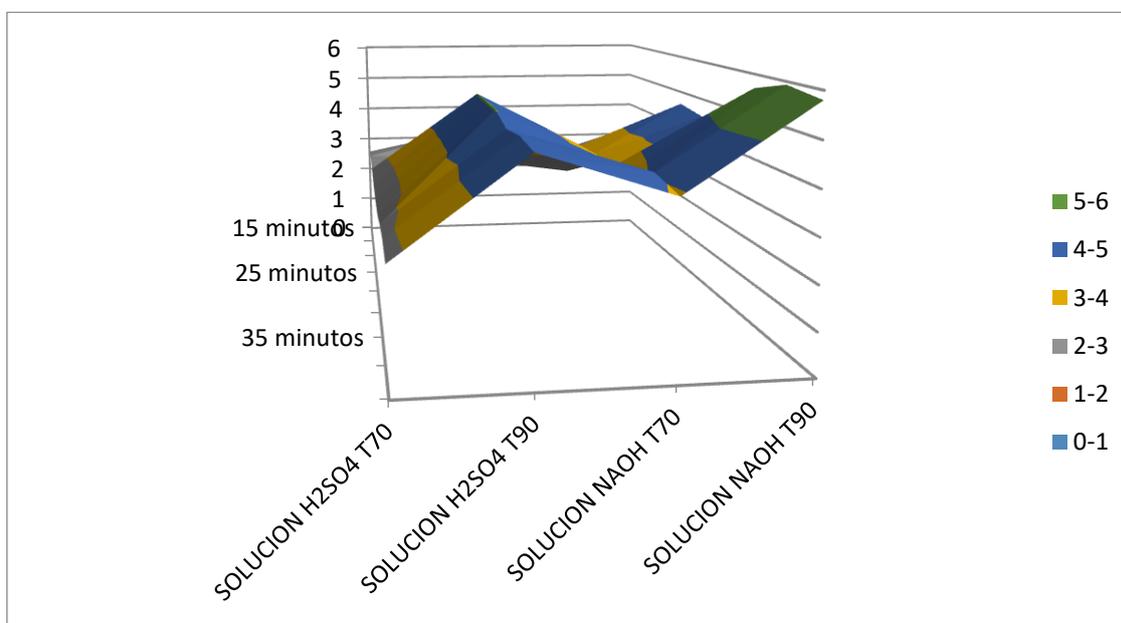


Figura 15. Gráfica de superficie de rendimiento.

Anexo 3: Figuras del peso equivalente

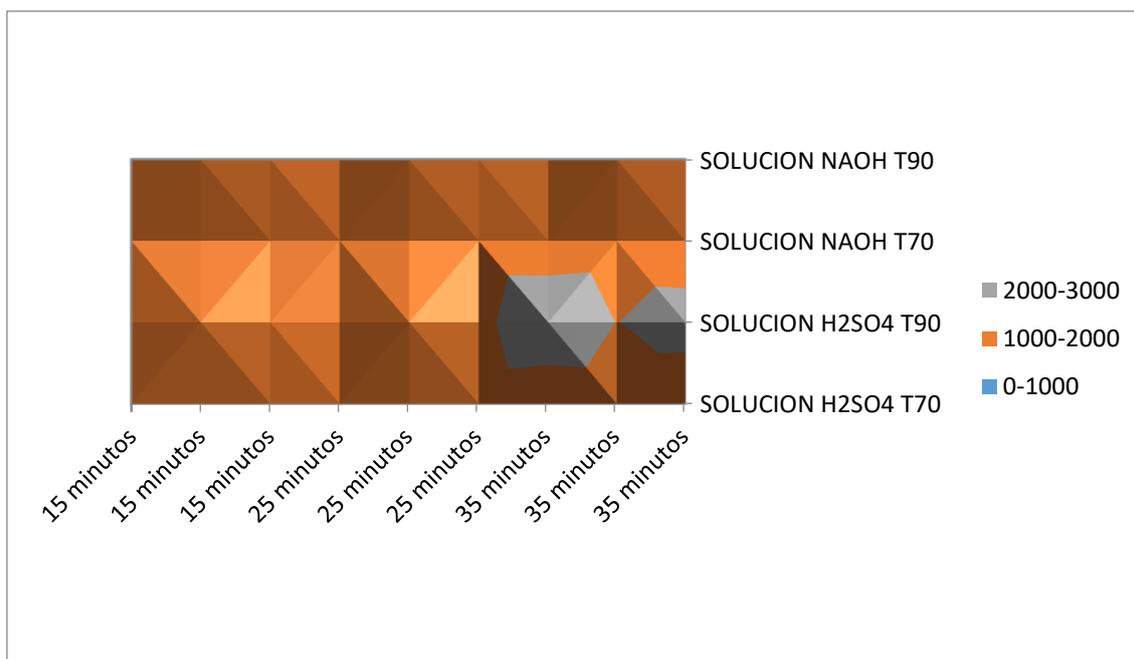


Figura 16. Grafica de contornos de peso equivalente.

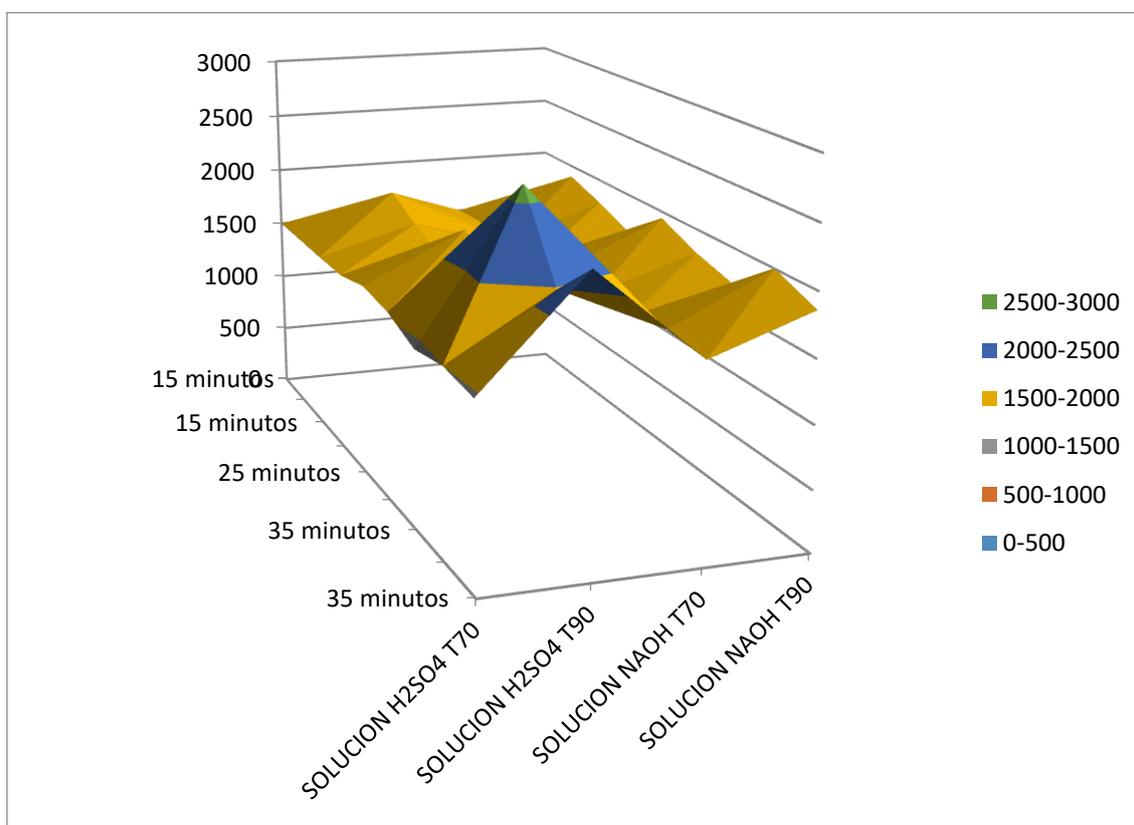


Figura 17. Gráfica de superficie de peso equivalente.

Anexo 4: Figuras del contenido de metóxilo

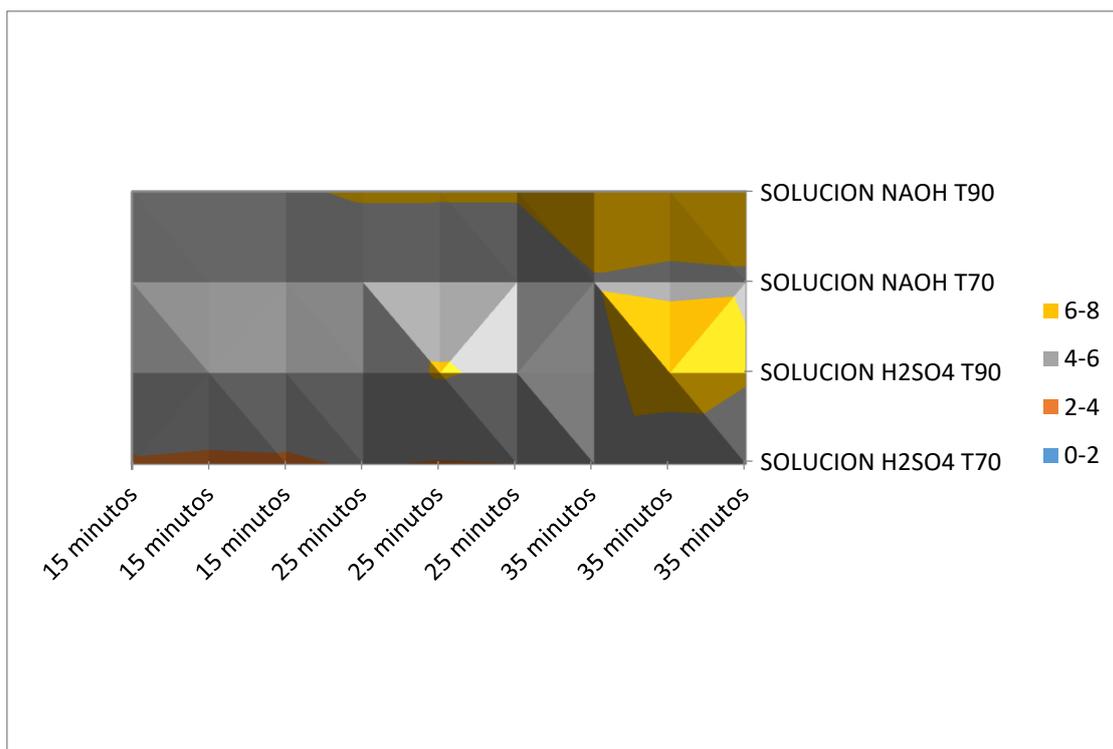


Figura 18. Gráfica de contornos de contenido de metóxilo.

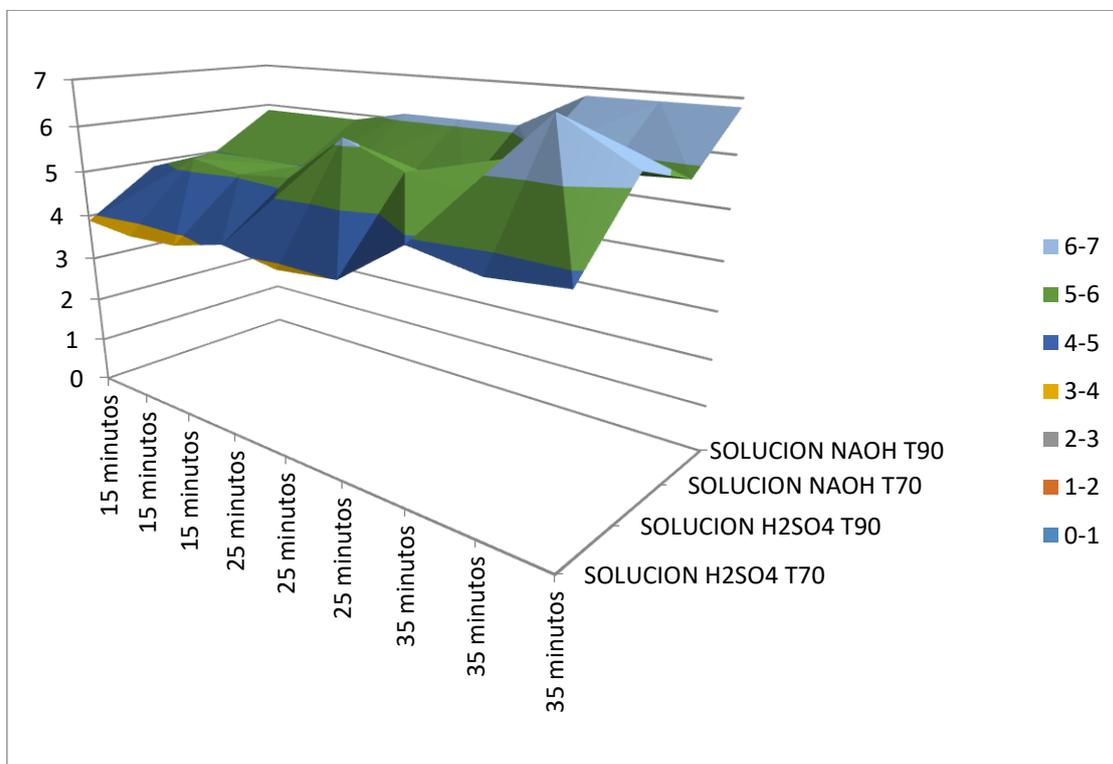


Figura 19. Gráfica de superficie de contenido de metóxilo.

Anexo 5: Figuras de ácido galacturónico

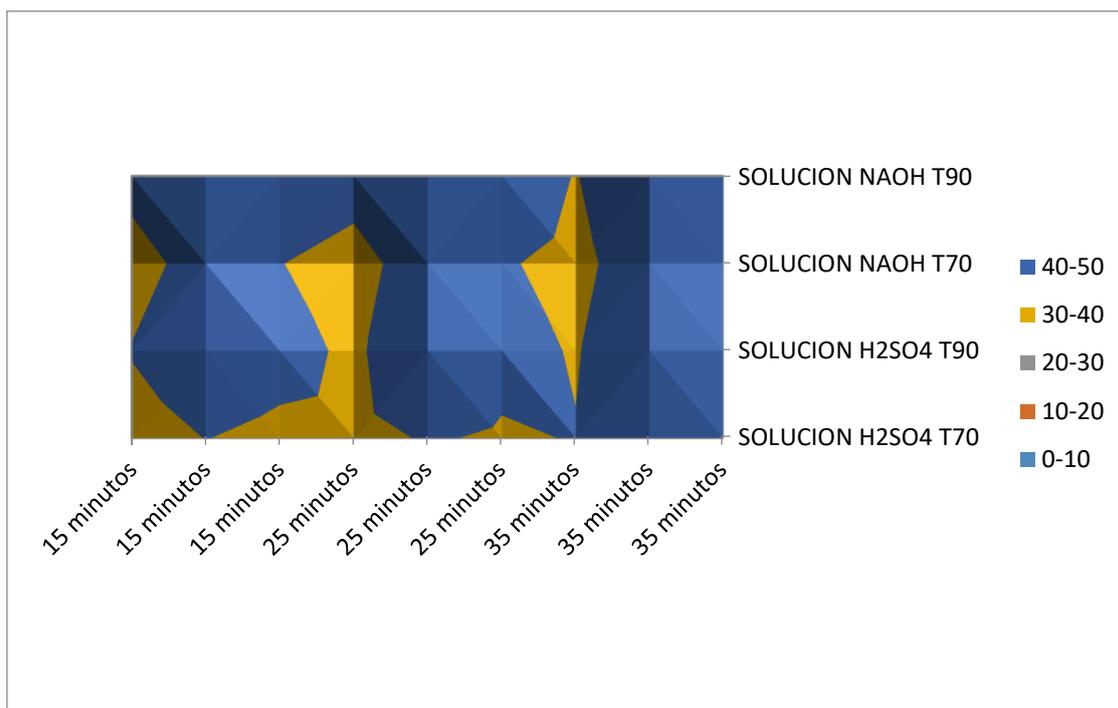


Figura 20. Gráfica de contornos de ácido galacturónico.

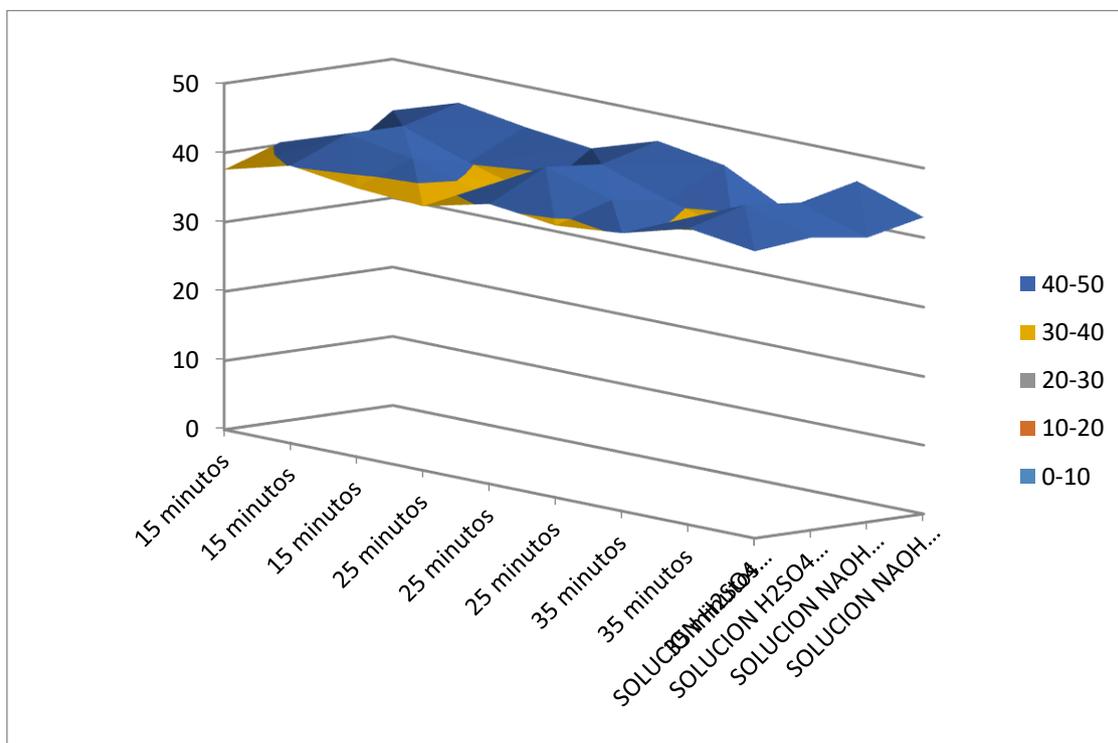


Figura 21. Gráfica de superficie de ácido galacturónico.

Anexo 6: Figuras de grado de esterificacion

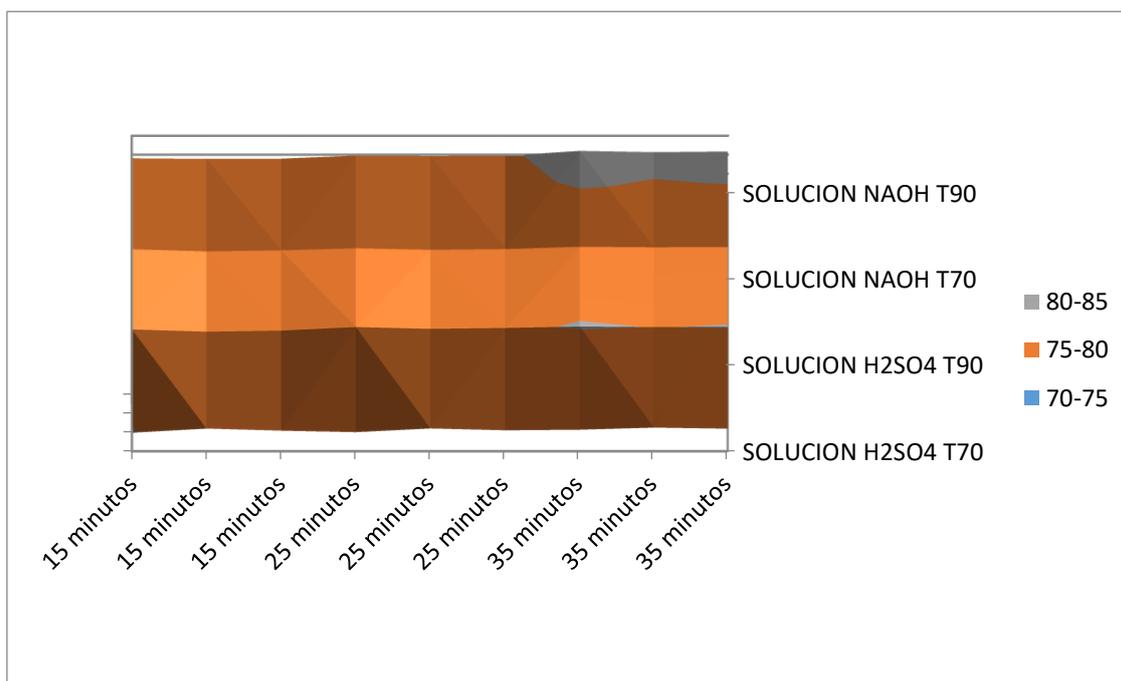


Figura 22. Gráfica de contornos del grado de esterificacion.

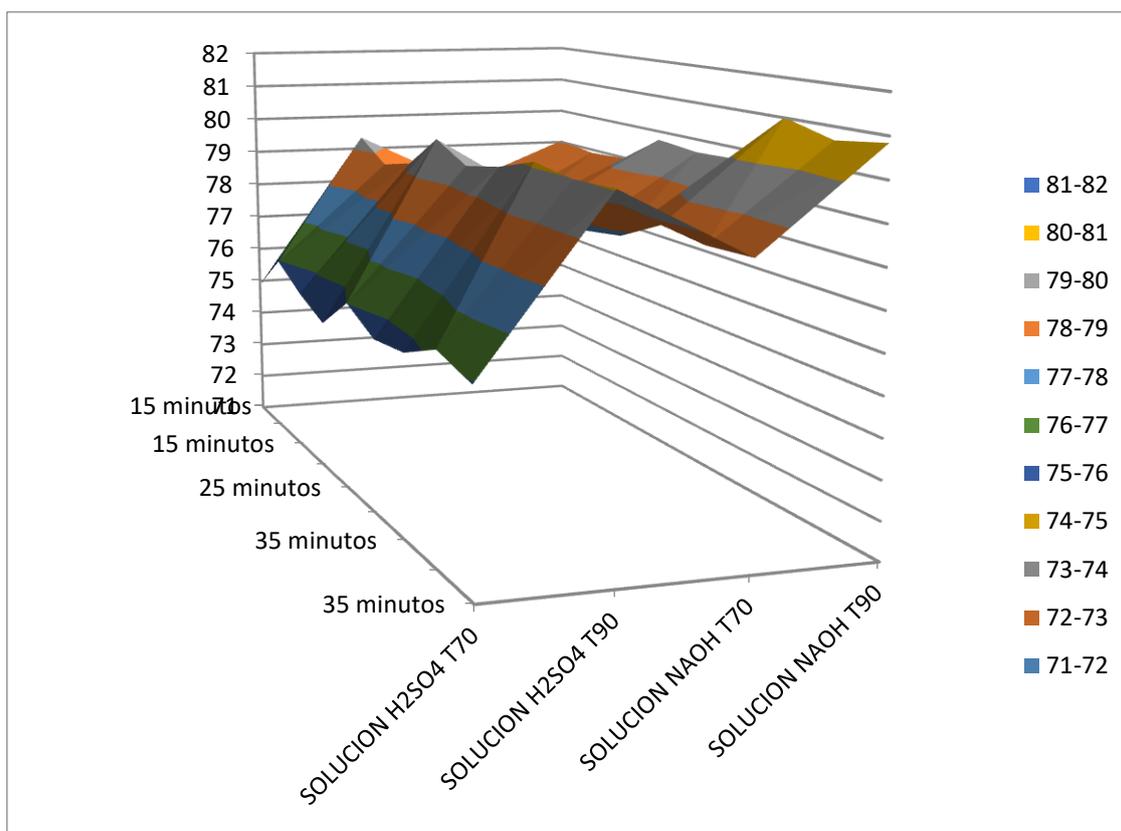


Figura 23. Gráfica de superficie del grado de esterificacion.

Anexo 7

DESCRIPCIÓN	FOTO
MOLIENDA	
DESCRIPCIÓN	FOTO
SECADO	



Tabla N° 20 resultado de los tratamientos

TRATAMIENTO	SOLUCIONES	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (MINUTOS)	RENDIMIENTO (%)	PESO EQUIVALENTE (GRAMOS/EQUIVALENTE-GRAMO)	METÓXILO (%)	ÁCIDO GALACTURÓNICO (%)	GRADO DE ESTERIFICACIÓN (%)
1	H2SO4	70	15	2.57	1497.56	3.89	37.56	74.88
2	H2SO4	70	25	2.51	1504.34	4.12	38.21	75.03
3	H2SO4	70	35	2.69	1435.24	4.91	40.23	75.67
4	H2SO4	90	15	3.16	1588.58	4.88	40.34	79.34
5	H2SO4	90	25	5.03	1602.78	5.17	39.01	79.98
6	H2SO4	90	35	4.81	2623.67	5.45	39.60	80.12
7	NaOH	70	15	2.32	1499.56	4.99	36.90	77.78
8	NaOH	70	25	3.52	1504.34	5.09	37.45	78.03
9	NaOH	70	35	3.77	1535.24	5.90	38.10	78.45
10	NaOH	90	15	3.23	1688.58	5.87	42.60	79.05



11	NaOH	90	25	4.66	1667.78	6.13	43.02	79.76
12	NaOH	90	35	5.67	1712.67	6.84	39.71	80.01
13	H2SO4	70	15	2.73	1499.78	3.78	40.11	75.98
14	H2SO4	70	25	2.45	1578.55	3.90	40.50	76.01
15	H2SO4	70	35	2.81	1501.12	4.67	42.89	76.23
16	H2SO4	90	15	2.57	1867.45	5.23	43.49	78.76
17	H2SO4	90	25	5.04	1976.78	6.14	44.68	79.50
18	H2SO4	90	35	4.93	1987.67	6.98	45.08	79.98
19	NaOH	70	15	2.58	1519.67	5.00	43.47	77.22
20	NaOH	70	25	3.58	1584.36	4.99	43.87	77.64
21	NaOH	70	35	4.08	1610.78	5.74	44.26	78.30
22	NaOH	90	15	3.02	1900.78	5.87	45.66	78.90
23	NaOH	90	25	4.53	1945.78	6.13	46.05	79.65
24	NaOH	90	35	5.93	2003.67	6.84	46.17	80.67



25	H ₂ SO ₄	70	15	2.65	1498.67	3.835	38.835	75.43
26	H ₂ SO ₄	70	25	2.48	1541.445	4.01	39.355	75.52
27	H ₂ SO ₄	70	35	2.75	1468.18	4.79	41.56	75.95
28	H ₂ SO ₄	90	15	2.865	1728.015	5.055	41.915	79.05
29	H ₂ SO ₄	90	25	5.035	1789.78	5.655	41.845	79.74
30	H ₂ SO ₄	90	35	4.87	2305.67	6.215	42.34	80.05
31	NaOH	70	15	2.45	1509.615	4.995	40.185	77.5
32	NaOH	70	25	3.55	1544.35	5.04	40.66	77.835
33	NaOH	70	35	3.925	1573.01	5.82	41.18	78.375
34	NaOH	90	15	3.125	1794.68	5.87	44.13	78.975
35	NaOH	90	25	4.595	1806.78	6.13	44.535	79.705
36	NaOH	90	35	5.8	1858.17	6.84	42.94	80.84