



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

**INFORME DE INVESTIGACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE MAGISTER EN AGROINDUSTRIA**

**MODALIDAD:
TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TEMA:
METODOLOGÍA NIR EN LA DETERMINACIÓN RÁPIDA DE
ÁCIDOS GRASOS EN ACEITES CRUDOS. ÁREA DE CONTROL DE
CALIDAD LA FABRIL S.A.**

**AUTORES:
ALMEIDA ZAMBRANO JORGE ALFREDO
MACÍAS MOREIRA DIEGO ARMANDO**

**TUTOR:
ING. JOSÉ MIGUEL GILER MOLINA, M.SC.**

CALCETA, AGOSTO 2020

DERECHOS DE AUTORÍA

JORGE ALFREDO ALMEIDA ZAMBRANO y DIEGO ARMANDO MACÍAS MOREIRA, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumimos la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



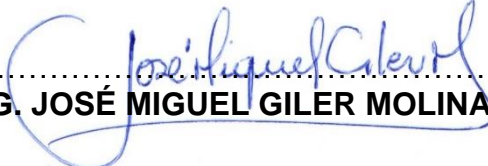
ALMEIDA ZAMBRANO JORGE



MACÍAS MOREIRA DIEGO

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. JOSÉ MIGUEL GILER MOLINA, certifica haber tutelado el trabajo de titulación “**METODOLOGÍA NIR EN LA DETERMINACIÓN RÁPIDA DE ÁCIDOS GRASOS EN ACEITES CRUDOS. ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FABRIL S.A.**”, que ha sido desarrollado por **JORGE ALFREDO ALMEIDA ZAMBRANO Y DIEGO ARMANDO MACÍAS MOREIRA**, previo la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.


.....
ING. JOSÉ MIGUEL GILER MOLINA, M.Sc.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **METODOLOGÍA NIR EN LA DETERMINACIÓN RÁPIDA DE ÁCIDOS GRASOS EN ACEITES CRUDOS. ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FABRIL S.A.**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **JORGE ALFREDO ALMEIDA ZAMBRANO Y DIEGO ARMANDO MACÍAS MOREIRA**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
Ing. Sofía Velásquez Cedeño, M.Sc.
Miembro del Tribunal

.....
Ph.D. Julio Saltos Solórzano
Miembro del Tribunal

.....
Ph.D. Ely Fernando Sacón Vera.
Presidente del tribunal

AGRADECIMIENTO

A Dios, siempre primero, por mantenerme saludable y guiarme por todo camino que recorro.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí por darnos la apertura para seguir creciendo, no solo en el ámbito profesional sino también como personas de bien.

A mis padres por ser mi pilar fundamental durante todo este proceso, su apoyo me ayudó a no desmayar en ningún momento.

A los catedráticos, al tutor Ing José Miguel Giler por compartir sus conocimientos y por estar siempre presto a apoyarnos en la realización de nuestra tesis.

A mis amigos, a mis primos y a mi enamorada.

Jorge Alfredo Almeida Zambrano

AGRADECIMIENTO

Agradecer a la vida por mostrarme lo justa y hermosa que es, a Dios por permitirme despertar y tener a mi familia como el centro de mí y tener de ellos ese apoyo incondicional en cada proyecto y decisión que tome, cada sacrificio de mi esposa y mis hijos, o como nosotros le llamamos es el amor de la familia unida, siendo la mayor motivación en mi vida encaminada al éxito, fueron ese ingrediente perfecto para haber culminado este ciclo con éxito, poder disfrutar con ellos y de ser bendecido en tenerlos, con lo complicado que fue el camino hasta ahora y de lograr esta meta, contando con sus aportes, su amor, su inmensa bondad y apoyo, sosteniéndome como esos pilares para no derrumbarme a mitad de la obra y lo complicado que fue lograr esta meta, “mi gran equipo , mi hermosa familia”.

Gracias a mis padres por ser promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, por anhelar siempre lo mejor y por cada consejo o palabra de aliento brindada, preocupados por mis avances y mi desarrollo, es simplemente único y se ve reflejado en el camino de mi vida.

Gracias totales, la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, a los catedráticos, amigos, familiares y demás personas que apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis.

Diego Armando Macías Moreira

DEDICATORIA

A Dios Padre Celestial por la fuerza espiritual que siempre me concede.

A mis padres, Jorge y Benedicta, por confiar en mí y por haberme contagiado siempre de humildad y trabajo.

A Jenniffer Belén por estar en todo momento conmigo, en las buenas y malas.

A Barcelona Sporting Club, mi eterno amor.

Jorge Alfredo Almeida Zambrano

DEDICATORIA

Dedico especialmente esta tesis a mi esposa Silvia Zambrano y mis hijos, Diego y Emma, quienes desde el inicio de esta carrera me acompañaron en cada proceso, en el desarrollo de este estudio, en cada tiempo dedicado a la investigación, ellos quienes, con sus manifestaciones de amor, cariño y apoyo, cambiaban en un abrir y cerrar de ojos el estado emocional de querer renunciar por el cansancio, el estrés y la ansiedad de terminar. Por lo tanto, contar con ellos es una gran bendición de Dios.

Me llena de gran satisfacción poder dedicarles a ellos lo que con mucho esfuerzo, esmero y trabajo he logrado concluir.

Diego Armando Macías Moreira

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL.....	ix
CONTENIDO DE TABLAS	xi
CONTENIDO DE FIGURAS	xii
CONTENIDO DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiv
PALABRAS CLAVE.....	xiv
ABSTRACT	xv
KEY WORDS	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. LA INDUSTRIA ALIMENTARIA, SUS PRINCIPALES PROBLEMAS Y NUEVOS AVANCES TECNOLÓGICOS	6
2.2. MÉTODOS INSTRUMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	8
2.2.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	8
2.2.2. ESPECTROSCOPÍA DEL INFRARROJO CERCANO (NIR).....	11
2.3. DETERMINACIÓN DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS	12
2.4. ACEITES CRUDOS	14
2.4.1. ACEITE DE SOJA	15
2.4.2. ACEITE DE GIRASOL	15
2.4.3. ACEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEN.....	16

2.4.4. ACEITE DE CANOLA.....	17
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	18
3.1 UBICACIÓN	18
3.2 DURACIÓN.....	18
3.3 VARIABLES EN ESTUDIO	18
3.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.....	18
3.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE	18
3.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO	18
3.4.1 FASE 1: DETERMINACIÓN DEL RANGO DE CONCENTRACIÓN PARA CADA ANALITO EN ESTUDIO	19
3.4.2 FASE 2: ELABORACIÓN DE LA MATRIZ DE LOS ESPECTROS PARA CADA UNO DE LOS ÁCIDOS GRASOS	22
3.4.3 FASE 3: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS NIR Y CROMATOGRAFÍA DE GASES	22
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1 FASE 1: DETERMINACIÓN DEL RANGO DE CONCENTRACIÓN PARA CADA ANALITO EN ESTUDIO	23
4.2 FASE 2: ELABORACIÓN DE LA MATRIZ DE LOS ESPECTROS PARA CADA UNO DE LOS ÁCIDOS GRASOS	25
4.3 FASE 3: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS NIR Y CROMATOGRAFÍA DE GASES	27
4.3.1. ANÁLISIS EN EL ACEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEN	28
4.3.2 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE CANOLA CRUDA.....	28
4.3.3 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE SOYA	30
4.3.4 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE GIRASOL.....	31
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
5.1. CONCLUSIONES	33
5.2.- RECOMENDACIONES.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34
ANEXOS.....	38

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1: Algunos ácidos grasos presentes en los alimentos.....	12
Tabla 2 Nomenclatura de ácidos grasos esenciales	13
Tabla 3.- Valores promedio de cada ácido graso en los tipos de aceite.	27
Tabla 4. p-valores en aceite de oliva.....	28
Tabla 5.- p-valores en aceite de canola	29
Tabla 6. p-valor en ácidos insaturados totales de la canola.....	30
Tabla 7.- p-valores en aceite de soya	30
Tabla 8. p-valores en aceite de girasol.....	31

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. (a) Diagrama que muestra la separación de una mezcla A y B por cromatografía de elución en columna. (b) Señal de la salida del detector en las distintas fases de la elución mostradas en (a).....	10
Figura 2: Cromatógrafo de gases.....	19
Figura 3: Equipo NIRFlex N-500	21
Figura 4: Cromatograma del aceite extra virgen	23
Figura 5: Cromatograma del aceite de canola.....	23
Figura 6: Cromatograma del aceite de soya.....	24
Figura 7: Cromatograma del aceite de girasol.....	24
Figura 8: Espectro del aceite de oliva extra virgen.....	25
Figura 9: Espectro del aceite de canola.	25
Figura 10: Espectro del aceite de soya.	26
Figura 11: Espectro del aceite de girasol.	26

CONTENIDO DE ANEXOS

Anexo 1.- Presupuesto y fuentes de financiamiento	39
Anexo 2.- Cronograma del trabajo de titulación	40
Anexo 3.- Aceite de soya	41
Anexo 4.- Aceite de girasol.....	41
Anexo 5.- Aceite de oliva extra virgen	42
Anexo 6.- Aceite de canola.....	42
Anexo 7.- Obtención de muestras de aceites para ser analizadas en CG.	43
Anexo 8.- Muestras de aceites para ser analizadas en CG.....	43
Anexo 9.- Muestras de aceites para ser analizadas en el NIR.	44
Anexo 10.- Prueba de Hipótesis con promedios CG-NIR.....	44
Anexo 11.- Prueba de Hipótesis con datos del ácido oleico en la canola CG-NIR. 45	
Anexo 12.- Diagrama de bloques. Comparación de métodos.....	46

RESUMEN

La presente investigación se centró en evaluar una nueva modalidad de análisis con metodología NIR en la determinación de ácidos grasos de algunos aceites implicados dentro de las líneas de producción de la Industria La Fabril S.A., lo que permitió clasificar y cuantificar características de aceites crudos de naturaleza distinta, de una manera más fácil, rápida y no destructiva. Los aceites utilizados en el experimento fueron: oliva extra virgen, canola, soya cruda y girasol crudo. Se realizaron tres mediciones o escaneos de 110 muestras entre los cuatro aceites, un total de 330 lecturas, en el módulo de transmitancia y los valores de referencia obtenidos, fueron medidos a través de cromatografía de gases. La integración para la calibración del equipo NIR se realizó en el asistente de calibración patentado del NIRCAl, utilizando el software NIRWare. Luego de elaborar la matriz, se tomaron veinte muestras aleatorias, cinco de cada aceite, donde se realizaron las mediciones con ambas metodologías, determinando sus principales ácidos grasos como el palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico. Además, se realizó una comparación de muestras dependientes entre las dos metodologías resultando de manera general una similitud entre ambas debido a que los valores-P fueron superiores a 0.05, lo que conlleva a concluir que se pueden realizar análisis utilizando la metodología NIR de una manera más eficiente, ahorrando costo y tiempo a nivel industrial.

PALABRAS CLAVE

Cromatografía, espectroscopía, ácidos grasos, NIR.

ABSTRACT

The present investigation focused on evaluating a new modality with NIR methodology in the determination of fatty acids of some oils involved within the production lines of the FABRIL S.A. industry, which allowed classifying and quantifying the characteristics of crude oils of different nature, in an easier, faster and non-destructive way. The oils used in the experiment were: extra-virgin olive, canola, raw soy and raw sunflower. Three measurements or scans of 110 were made among the four oils, a total of 330 readings, in the transmittance module and the obtained reference values were measured through gases chromatography. The integration for NIR equipment calibration was performed in the NIRCal's proprietary calibration wizard, using NIRWare software. After elaborating the matrix, twenty random samples were taken, five from each oil, where the measurement were performed with both methodologies, determining their main fatty acids such as palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic. In addition, a comparison of dependent samples was performed between the two methodologies, resulting in a general similarity between the two due to the p-values being greater than 0.05, which leads to the conclusion that analyzes can be performed using the NIR methodology in a way more efficient, saving cost and time at an industrial level.

KEY WORDS

Chromatography, spectroscopy, fatty acid, NIR.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Uno de los factores claves para el éxito de una empresa es el control de calidad de alimentos como consecuencia de la investigación y el desarrollo de la misma. Es importante considerar la adecuada selección y uso de la instrumentación en los laboratorios. La instrumentación permite medir, controlar y monitorear todos los elementos y variables de un sistema, con la correcta aplicación de equipos, encaminados a optimizar recursos.

Según Iturralde & Gutiérrez (2017), la instrumentación es el conjunto de ciencias y tecnologías que permiten medir cantidades físicas o químicas con la finalidad de obtener información para su evaluación o actuación sobre los sistemas de control automáticos.

A través de la instrumentación se puede determinar, sobre todo en alimentos, parámetros como: color, textura, extracción y cuantificación de lípidos, proteínas, análisis de carbohidratos, metales pesados, entre otros. Los equipos más importantes utilizados actualmente en la instrumentación industrial son polarímetro, colorímetro, cromatógrafo de gases y de líquidos, densímetro, refractómetro, texturómetro, viscosímetro.

Muchas técnicas son utilizadas para el análisis de grasas en alimentos, como las de composición, de calidad y de extracción. Para cada una de ellas existen métodos que han sido estandarizados por la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), American Oil Chemists' Society (AOCS) e International Organization for Standardization (ISO) logrando establecer normas específicas para la determinación de grasas y aceites, índice de yodo, índice de saponificación, clases lipídicas, cromatografía de gases, índice de refracción, índice de acidez, índice de peróxidos e índice de anisidina (Terevinto, 2013).

Conjuntamente Galarza, (2018) expone la importancia de destacar que la mayoría de las empresas a la hora de adquirir equipos de instrumentación no solo consideran la tecnología, sino que además es necesario tener el criterio adecuado para seleccionar el proveedor que suministrará los equipos quien debe asegurar un adecuado servicio post-venta.

En la actualidad se escogen equipos de alta tecnología como por ejemplo la espectroscopía Near InfraRed (NIR); los controles en el desarrollo, proceso y establecimiento de la calidad de los productos finales, llevan un manejo adecuado para la industria. Por otro lado, Peguero (2010), explica que una de las grandes ventajas de la espectroscopía NIR es la versatilidad y adaptabilidad que presenta para analizar muestras de distinta naturaleza; la ausencia de pre tratamiento de la muestra para el registro del espectro, permite disponer de gran cantidad de accesorios adaptables a cada situación.

Con relación a la gran cantidad de procesos que mantienen y el manejo de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Cueva (2012), considera a la metodología NIR como una herramienta idónea con profundidad eficiente y gran exactitud, debido a factores económicos y su rapidez, puesto que no existe tratamiento de la muestra y la obtención de resultados es rápida; ausencia de consumo de reactivos, mínima formación del personal y bajo costo de mantenimiento y de seguridad debido a que no se generan residuos y los resultados son fiables.

La Fabril S.A. una empresa ecuatoriana dedicada a elaboración de productos oleaginosos y de limpieza, actualmente cuenta con sistemas productivos que requieren un sin número de controles analíticos debido a su crecimiento y a la innovación que mantiene día a día en sus respectivos procesos de producción, lo que implica que se realicen pruebas más complejas con equipos de alta tecnología para poder mantener el control de la calidad en sus productos. La determinación de ácidos grasos en cada punto de control, es un análisis muy importante para esta industria, además de la complejidad de la información que proporciona y la operación que conlleva, sólo cuenta con un cromatógrafo de gases para el control de los procesos y además comprendiendo que esta metodología maneja tiempos muy extensos.

Para el área de control de calidad de La Fabril S.A. realizar estas mediciones implican manejar tiempos de programación con los diferentes procesos priorizando los de mayor costo o productos de clientes potenciales, por lo tanto con la finalidad de optimizar tiempo y recursos, se adquirió un equipo NIR con el que se puede obtener resultados de una manera más rápida y por ende permite agilizar la entrega de resultados a sus respectivos procesos sin tener que improvisar o cambiar los programas de producción.

Dado que la complejidad para la puesta en marcha del equipo NIR requiere una etapa preparatoria de calibración en conjunto con un cromatógrafo de gases para determinar el perfil de ácidos grasos y siendo esta instrumentación necesaria, en la actualidad no se ha podido establecer.

Con estos antecedentes se plantea la siguiente pregunta científica: ¿Cómo el equipo NIR determina de una manera más eficiente el perfil de ácidos grasos de los aceites crudos?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La Fabril S.A es una empresa que va a la par con la innovación de productos, el desarrollo de la investigación y uso de alta tecnología, que a la vez se preocupa de reducir al mínimo el impacto ambiental, además de salvaguardar la integridad física, mental y social de sus colaboradores; establecido así dentro de su política corporativa, ayuda a que se abran nuevos mercados más exigentes, que a la vez la miran posesionada como una empresa seria y confiable.

Una vez implementada la calibración del equipo NIR mediante la introducción de parámetros a controlar y el desarrollo de modelos matemáticos se logró reducir los tiempos de análisis que como consecuencia generaría una mayor productividad con estándares internacionales; optimizar recursos y por consiguiente usar una herramienta que hasta ahora no genera una utilidad.

Con este equipo, al no usar reactivos en la preparación de las muestras, se reduce la generación de desechos por ser una técnica más limpia que mitigará el impacto ambiental y además evitará la exposición directa de los analistas en el proceso de metilación.

Se comparó dos metodologías para el tratamiento de los datos espectrales mediante el uso de espectroscopia NIR y la cromatografía de gases, en esta última se aplica la técnica internacional AOCS Ce-1h-05, que determina la caracterización de pureza de productos previa metilación de Fatty Acid Methyl Esters (FAME), con su variación de intensidades de picos por compuestos, y por otro lado los espectros de componentes principales registrados por el NIR en tiempo real utilizados para comparar la similitud después de haber generado una curva de calibración a través de una base de datos para comparar la calidad de sus resultados. Esta metodología permite su reproducibilidad en la determinación de ácidos grasos de otros aceites y su versatilidad en técnicas de cuantificación para varios alimentos tales como proteínas, humedad, fibras, azúcares, contenido de fósforos, entre otros, controlando los procesos de fabricación y permitiendo validar la manufactura de productos en la industria.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar el perfil de ácidos grasos de los aceites de girasol crudo, soya cruda, oliva extra virgen y canola cruda mediante el empleo de la metodología NIR en la industria La Fabril S.A.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer rango de concentración para cada analito en girasol crudo, soya cruda, oliva extra virgen y canola cruda.
- Elaborar la matriz del espectro para cada uno de los ácidos grasos.

- Comparar los métodos NIR y cromatografía de gases en la determinación de ácidos grasos.

1.4. HIPÓTESIS

El equipo NIR determina de forma rápida el perfil de ácidos grasos en aceites crudos.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LA INDUSTRIA ALIMENTARIA, SUS PRINCIPALES PROBLEMAS Y NUEVOS AVANCES TECNOLÓGICOS

Con las nuevas exigencias alimentarias del consumidor, se tiene un enfoque diferente al de décadas pasadas al poner en su prisma la búsqueda de una nutrición saludable, que satisfaga las necesidades energéticas de los seres humanos sin provocar acumulaciones dañinas que conllevaran a la aparición de enfermedades de alta incidencia en nuestro tiempo, tales como la diabetes y las enfermedades cardiovasculares (Pons, 2015).

Sin embargo, debido al crecimiento productivo de fuentes alternativas que aportan al sustento alimenticio con las exigencias del nuevo consumidor, se conduce a implementar un sin número de metodologías con experimentaciones y mediciones tecnológicas en procesos, que garanticen y certifiquen la investigación, la caracterización, la valorización de alimentos seguros con aportes a las necesidades del ser humano.

A inicios del siglo XX, los químicos empezaron a utilizar técnicas distintas de las utilizadas en los métodos comunes para resolver los problemas más analíticos. Así, para Skoog, Holler y Niema (2001), el análisis cuantitativo de una gran variedad de analitos inorgánicos, orgánicos y bioquímicos se empezaron a reemplazar la destilación, extracción y precipitación por métodos más modernos de separación de mezclas complejas y eficaces, tales como: separación de mezclas complejas, técnicas cromatográficas y electroforéticas.

Teniendo en cuenta que el avance de la tecnología del siglo XXI conlleva a realizar mediciones instrumentales más eficaces y confiables dentro de procesos productivos, siendo más preventivos que correctivos, su mayor desventaja son los altos costos que implica la implementación, la investigación y el desarrollo.

Con los avances en las técnicas para detectar y cuantificar productos químicos a nivel de trazas, por lo tanto, Peña y Castillo (2015) aseguran que ahora pueden ser

identificados y cuantificados estos analitos de pequeñas concentraciones, con el objetivo de estudiar los efectos que estos productos químicos tienen sobre la salud y el medio ambiente.

El contorno agroindustrial permite la entrada en vigor de reglamentos que exigen el cumplimiento de una serie de parámetros que definen la identidad y los requisitos mínimos de calidad y autenticidad de los productos, lo que ha impulsado el desarrollo de métodos de análisis por cromatografía de gases en diversos aspectos del control de los productos crudos, también utilizados como ingredientes y los productos elaborados (Gutiérrez et al., 2014).

Los análisis de cromatografía de gases (GC) pueden tener costos anuales significativos asociados con el mantenimiento de rutina, la degradación de la columna y el consumo de gas portador. Estos costos continuos pueden reducirse en gran medida una vez que se reemplace esta tecnología por un analizador basado en espectrómetro en línea guiada.

Consecuentemente Sánchez, Martos y Ballesteros (2015) manifiestan que la aplicación de la técnica de espectroscopia de infrarrojo cercano en la industria agroalimentaria se perfila como la solución inmediata para solventar las necesidades de un control de calidad en los alimentos. Entre los beneficios que han permitido su desarrollo sobresalen el de ser una técnica no destructiva, con escasa preparación de muestra, rapidez de respuesta, bajo costo, alta precisión, ser una técnica no contaminante y ofrecer información simultánea de diferentes parámetros de control en la calidad para productos muy diversos.

Con este contexto, la industria La Fabril S.A. basa su crecimiento enfocada a la investigación y al desarrollo de productos innovadores y de consumo masivo. Estableciendo los controles adecuados de las diversas materias primas y procesos que sostiene, adquirió un equipo de análisis NIR, muy importante adecuándose a la mayoría de tipos de instrumentación analítica porque es una técnica que permite ahorro económico, es limpio, mayor información en menos tiempo, reemplazo del recurso humano, entre otros, que se aplicará en el control de calidad para poder

caracterizar de una manera muy ágil los diferentes tipos de aceites crudos utilizados en sus procesos de producción.

2.2. MÉTODOS INSTRUMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Existe un sinnúmero de métodos instrumentales para la determinación de materia grasa total como son: extracción con un solvente, extracción con mezclas de solventes, métodos volumétricos, dispersión de la luz, cromatografía de gases, espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR), resonancia magnética nuclear (NMR) entre otros, sin embargo, se hará énfasis en el análisis de los dos métodos que representan las variables de estudio de esta investigación.

2.2.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES

Gutiérrez y Droguet (2002) describen a la cromatografía de gases (CG) como una técnica que constituye una herramienta potente para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas. Además, consideran que la combinación de altas resoluciones, sensibilidad y tiempos de análisis cortos la ha convertido en una técnica de rutina usada en la mayoría de los laboratorios químicos.

En este método empleado, la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el recorrido de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido (CGS) y la cromatografía gas-líquido (CGL).

- La cromatografía gas-sólido se basa en una fase estacionaria sólida en la cual se produce la retención de los analitos como consecuencia de la

adsorción física. La CGS ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas (una consecuencia del carácter no lineal del proceso de adsorción), de modo que esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular.

- La cromatografía gas-líquido se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de CGL fue enunciado por Martin y Synge (1941), quienes fueron también los responsables del desarrollo de la cromatografía de distribución líquido-líquido.

Más de una década tuvo que pasar, sin embargo, antes de que la importancia de la cromatografía gas-líquido se demostrara experimentalmente. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas-líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma espectacular. Se ha estimado que unos 200 000 cromatógrafos de gases están actualmente en uso por todo el mundo (Gomis, 2008).

La dilución del analito es una importante característica común al proceso de separación, como lo ilustró Skoog et al. (2001), la elución implica el transporte de una especie a través de una columna por la adición continuada de nueva fase móvil, una única porción de la muestra se introduce en la parte superior de la columna donde se distribuyen entre las dos fases. La introducción de la fase móvil adicional (el eluyente) hace que la fase móvil que contiene en una parte de la muestra avance por la columna, donde tiene lugar a un posterior reparto entre la fase móvil y la fase estacionaria a las que accede.

Por tanto, los detectores empleados para los analitos separados deben ser, con frecuencia, más sensibles que los que serían necesarios si el proceso de separación no fuera imprescindible.

Si un detector que responde a la concentración del soluto se coloca al final de la columna, y se registra su señal en función del tiempo (o del volumen de fase móvil añadido), se obtienen una serie de picos como se muestra en la parte inferior de la Figura 1; este gráfico denominado cromatograma es útil tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo.

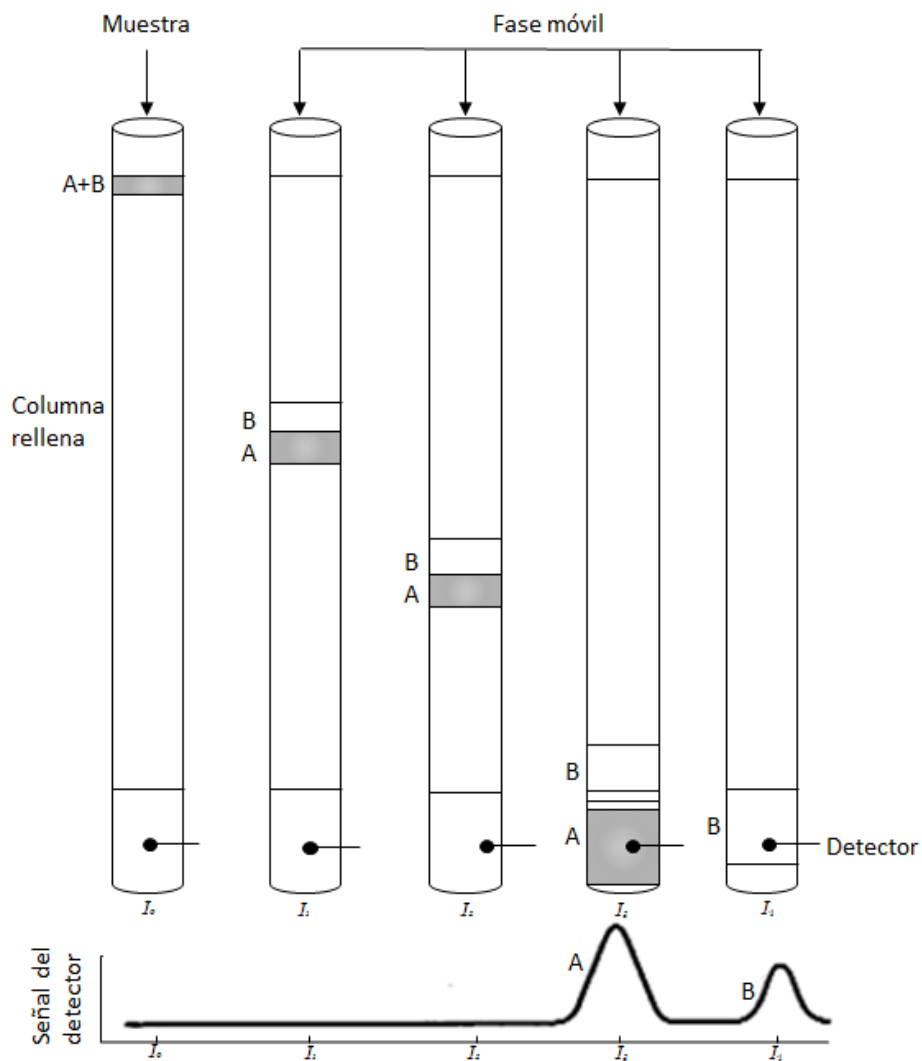


Figura 1. (a) Diagrama que muestra la separación de una mezcla A y B por cromatografía de elución en columna. (b) Señal de la salida del detector en las distintas fases de la elución mostradas en (a).

Fuente: Skoog, Holler & Nieman, 2005; Principios de análisis instrumental. pág. 737

2.2.2. ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO CERCANO (NIR)

Según Alcalá (2006), el descubrimiento de la región espectral del infrarrojo cercano se atribuye a Sir William Herschel, cuando en el año 1800 examinó la radiación infrarroja a través de la medida de temperatura de los colores creados por el paso de la luz solar a través de un prisma. Habitualmente esta región espectral se conoce como NIR, del acrónimo en inglés.

Ocampo (2015) considera que la espectroscopia de infrarrojo cercano se basa en la absorción de grupos funcionales que tienen un átomo de carbono unido a uno de hidrogeno, nitrógeno u oxígeno, las bandas originadas no son más que sobretonos de respuesta. Muy comunes en parámetros del alimento como agua, proteínas, grasas y polisacáridos.

Para Alfaro (2016), la tecnología NIR tiene como motivo interaccionar entre la radiación electromagnética infrarroja y la muestra, como consecuencia de la cual se producen cambios en el estado vibracional de las moléculas. El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad física independiente y, por tanto, característica de esa molécula. Por lo tanto, en función de los enlaces presentes en las moléculas, la absorción de radiación será variable en cada frecuencia del espectro infrarrojo.

Actualmente la técnica NIR es una de las más importantes y utilizadas en las industrias de alimentos y farmacéuticas, así mismo en otros sectores como el sector agropecuario, de bebidas, aceites entre otros. Sin embargo, Salguero (2013) considera que esta técnica a menudo presenta una diferencia entre dos instrumentos de medición, error que generalmente se asocia al tipo de muestreo realizado a la materia prima, la inestabilidad de los métodos quimiométricos, variaciones en los equipos aun cuando sean de la misma marca.

Aquella inestabilidad se puede dar en la quimiometría cuando el experto selecciona los datos que se aproximen a la mejor curva de calibración. Con el fin de disminuir

estas variaciones es necesario normalizar el instrumento de medición en este caso el NIR.

2.3. DETERMINACIÓN DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

Ortiz (2014) manifiesta que desde la perspectiva de vista químico los ácidos grasos (AG) son cadenas firmes de hidrocarburos con un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro. Convencionalmente son clasificados por el grado de saturación, de acuerdo con la presencia de enlaces dobles en la estructura se dividen en saturados e insaturados, estos últimos pueden ser monoinsaturados (AGMI) o poliinsaturados (AGPI).

De acuerdo a la posición del primer doble enlace en la cadena desde donde se encuentre el extremo metilo, denominado omega, existen tres familias de AGPI ω -3, ω -6 y ω -9. Castro (2002), considera que algunos de estos AG no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano y deben ser suministrados en la dieta por ser necesarios en funciones vitales del organismo, específicamente las familias ω -6 y ω -3, razón por la cual son denominados como ácidos grasos esenciales. En la Tabla 1 se encuentran algunos ácidos grasos presentes en los alimentos según lo describe la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2002).

Tabla 1
Algunos ácidos grasos presentes en los alimentos

Nombre común	Nombre sistemático	Abreviatura
Cáprico	Decaenoico	10:0
Láurico	Dodecanoico	12:0
Mirístico	Tetranoico	14:0
Palmítico	Hexanoico	16:0
Esteárico	Octadecaenoico	18:0
Araquídico	Eicosaenoico	20:0
Behénico	Docosanoico	22:0
Lignocénico	Tetracosanoico	24:0
Palmitoleico	Cis-9-gexadecenoico	16:1
Oleico	Cis-9-octadecacenoico	18:1
Gadoleico	Cis-11-eicosaenoico	20:1
Cetoleico	Cis-11-docasaenoico	22:1
Erúcico	Cis-13-docasoenoico	22:1
Nervónico	Cis-15-tetracosanoico	24:1

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación & Fundación Iberoamericana de Nutrición, 2012)

La comunidad científica ha reconocido la importancia de conocer el valor nutricional de los alimentos y el perfil de ácidos grasos de los aceites que generalmente son de alto consumo por el ser humano. Este es el caso de los ácidos grasos esenciales y no esenciales, que por su naturaleza deben provenir de fuente exógena.

Para Cabezas, Hernández y Vargas (2016), los ácidos grasos esenciales son necesarios para el crecimiento, durante el desarrollo y para mantener una buena salud; entre sus principales funciones destacan el ser reguladores metabólicos en los sistemas cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor, el ser imprescindibles para preservar la funcionalidad de las membranas celulares y la intervención en los procesos de transcripción genética. En la Tabla 2 se observa un resume los principales ácidos grasos esenciales con su respectiva nomenclatura.

Tabla 2
Nomenclatura de ácidos grasos esenciales

Nombre común	Nombre sistemático	Abreviatura	Fórmula
Familia ω-6			
Linoleico (LA)	Cis-9, 12-octadecadienoico	18:2	$C_{18}H_{32}O_2$
Y - linolénico	Cis-6.9.12-octadecatrienoico	18:3	$C_{18}H_{30}O_2$
Dihomo-g-linénico	Cis8, 11, 14-eicosatrienoico	20:3	$C_{20}H_{34}O_2$
Araquidónico (AA)	Cis-5. 8, 11, 14-eicosatetraenoico	20:4	$C_{22}H_{32}O_2$
Adrénico	Cis-7, 10, 13, 16-docosatetraenoico	22:4	$C_{22}H_{36}O_2$
Osmond	Cis-4,7, 10, 13, 16-docosapentaenoico	22:5	$C_{22}H_{34}O_2$
Familia ω-3			
ω - linolénico	Cis-8, 12-,15-octadecatrienoico	18:3	$C_{18}H_{30}O_2$
Estearidónico	Cis-6, 9, 12-,15-octadecatetraenoico	18:4	$C_{18}H_{28}O_2$
Timnodónico (EPA)	Cis-5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoico	20:5	$C_{20}H_{30}O_2$
Ciupanodónico(DPA)	Cis-7. 10. 13, 16, 19-docosapentaenoico	22:5	$C_{22}H_{34}O_2$
Cervónico (DHA)	Cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexanoico	22:6	$C_{22}H_{32}O_2$

Fuente: Castro (2002) citando a Dupont (1999)

Es importante considerar el uso adicional de los aceites como por ejemplo el de coco y el de almendra de palma (aceites láuricos) ya que, debido a su alta proporción de ácidos grasos con una longitud de cadena corta o larga, son particularmente adecuados para su posterior procesamiento como tensoactivos en agentes de lavado y limpieza, así como también en el área de cosméticos según lo menciona Hill (2000). Así mismo afirma que, el aceite de palma, el de soja y el de girasol contienen principalmente ácidos grasos de cadena larga y se utilizan como materias primas para aplicaciones de polímeros lubricantes.

Investigaciones de Moreda, Pérez y Cert (1995) concluyen que en el caso de la determinación de ácidos grasos especialmente los isómeros trans 18:1, 18:2 y 18:3 en el aceite de oliva virgen, recomiendan que se amplíe el límite para este tipo de aceite de 0,03% hasta 0,05% ya que la reproducibilidad (valores de R 0,028, 0,018 y 0,027 respectivamente) es de la misma magnitud que el límite. Además, concluyen que para evitar el desdoblamiento de los picos debe utilizarse en la cromatografía de gases unas condiciones que proporcionen escasa resolución, tales como, columna corta, diámetro grande y fase con poca polaridad.

2.4. ACEITES CRUDOS

El girasol sembrado (*Helianthus annuus* L.) es una de las principales especies productoras en el año de aceite en el mundo, junto con el de soya (*Glycine max* L. Merr.), canola (*Brassica rapa* L. y *B. napus* L.) y cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) (Ramírez García y Valdés, 2007).

Por lo consiguiente Durán, Torres y Sanhueza (2015) consideran que el consumo de aceites vegetales ha aumentado en las últimas décadas y que son parte importante de la dieta a nivel mundial. Sudamérica es un gran productor de diferentes aceites vegetales. Sin embargo, la composición de estos aceites vegetales no es estándar, ya que cambia considerablemente en el aporte de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, especialmente en el aporte de ácidos grasos omega-6 y omega-3.

A continuación, se presentan los aceites crudos que servirán a los autores de investigación como material experimental:

2.4.1. ACEITE DE SOJA

El aceite de soja (ver anexo 3) es el resultado del prensado del frijol de soja (*Glycine max*). Industrialmente, forma parte de alimentos para humanos y animales. El aceite de soja presenta altos niveles de AGPI, siendo el ácido linoleico el principal (53%), ácido oleico 22% y ALA (0.05%) y ácido palmítico (16.6%) y se utiliza principalmente para freír y cocinar, aunque presenta muy baja estabilidad térmica a otros aceites.

Según Palma (2014), la semilla de esta leguminosa está compuesta de cutículas, hipocotíleos y dos cotiledones. Es considerada como oleaginosa debido a que en su contenido posee un alto contenido de grasa (20%). Desde un punto de vista alimenticio y comercial sus principales componentes son las proteínas y las grasas.

2.4.2. ACEITE DE GIRASOL

De acuerdo a Gallegos, Rocha, González, Zuno y Vidaña (2003), el aceite de girasol (ver anexo 4) es un suministrador importante de ácidos grasos insaturados de cadena larga, sobre todo aquellos que son esenciales como el ácido linoleico y ácido linolénico cuya presencia mantiene estrecha relación con el buen funcionamiento de la célula.

Además, destacan que para la extracción de este aceite a partir de las semillas de girasol se pueden emplear tres métodos: extracción mecánica, extracción con solventes y una combinación de ambos métodos anteriores, los solventes más comúnmente empleados son las fracciones ligeras de petróleo, en donde se encuentra el hexano.

Para Sanhueza, Nieto y Valenzuela (2002) el aceite de girasol posee una buena cantidad de C 18:2, trans-9, cis-12, equivalente al 0,3% de los ácidos grasos totales, así también presenta una no insignificante cantidad de Ácido Linoleico Conjugado (ALC) (C18:2, 9c-11t). Comercialmente hay 3 formas principales de aceite de girasol disponibles en el mercado, el primero es aceite de girasol alto en AGPI

(75%). La segunda forma es un aceite de girasol alto oleico con un 45% de AGM y el tercero es aceite girasol alto en ácido esteárico (14%).

Según Castro, Herrera y Lutz (2005), los aceites de girasol EG1, EG2 y EG3 cumplen con el contenido de ácidos grasos indicadores cuando poseen valores entre 5,9 y 10,6% de ácido palmítico, un ácido graso aterogénico; pero también cuando contienen una alta proporción de ácido oleico y de ácido linoleico, ambos con reconocida acción protectora sobre el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

2.4.3. ACEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEN

El aceite de oliva (ver anexo 5) se extrae del prensado del fruto del olivo (*Olea europea*), este contiene entre un 72-79% de ácido oleico (C18:1, ω -9), y un 8% de ácido linoleico, además posee antioxidantes como la vitamina E, carotenos y compuestos fenólicos como el hidroxitirosol y oleuropeina 63, estos últimos antioxidantes son los más eficaces en el aceite de oliva y puede ejercer una mejor funcionalidad antioxidante que la vitamina E63 (Durán et al., 2015).

Oliveras (2005) reporta también que el ácido graso que está en altas cantidades en el aceite de oliva es el oleico, que representa aproximadamente el 79% del total de los ácidos grasos. Aunque considera que influye mucho la región de origen y el tipo de aceituna, pues esta propiedad puede variar ampliamente, de modo que hay aceites en los que el oleico es mínimo con el 57%, mientras que, en otros puede alcanzar el 82%.

Sánchez (2007), afirma que a partir de las aceitunas se obtienen aceites de oliva virgen y que a su vez se subdividen en aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva virgen y aceite de oliva virgen lampante. El virgen extra presenta características irreprochables de sabor y olor, el segundo también debe tener características irreprochables de sabor y olor, pero con una acidez mayor. El Aceite de oliva virgen lampante no es válido para consumo directo por su elevada acidez y debe ser refinado.

2.4.4. ACEITE DE CANOLA

Giacopini de Zambrano (2012) afirma que la canola se ubica en el segundo lugar como planta oleaginosa cultivada a nivel mundial, y no sólo se utiliza en la fabricación de aceite para ensaladas y frituras, sino también en la elaboración de margarinas, mantecas y otros productos alimenticios. Además, señala que, en Venezuela, el aceite comestible de canola se obtiene de las especies *Brassica napus* L y *Brassica campestris* L, las cuales tienen <2% de ácido eurúico.

Para Sánchez, Fernández y Nolasco (2015), el aceite de canola (ver anexo 6) es uno de los aceites vegetales comestibles considerado nutricionalmente equilibrado, con una buena relación de ácidos linoleico/linolénico (2:1), y saludable debido al contenido de diferentes compuestos bioactivos, los cuales pueden actuar como antioxidantes, inhibidores de enzimas y receptores. A su vez, la harina presenta un contenido de proteínas de 38-43 % con una adecuada composición de aminoácidos, generalmente destinada a la elaboración de concentrados proteicos para el consumo humano y animal.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN

El desarrollo de la investigación se realizó en el Departamento de Control de Calidad de la empresa La Fabril S.A., ubicada en el Km 5,5 vía Manta-Montecristi, provincia de Manabí.

3.2 DURACIÓN

El desarrollo de este trabajo tuvo una duración de 6 meses, desde octubre del 2019 hasta marzo del 2020.

3.3 VARIABLES EN ESTUDIO

3.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Métodos de determinación para el perfil de ácidos grasos.

3.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Determinación rápida del perfil de ácidos grasos en aceites crudos.

3.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para la ejecución de la investigación se establecieron 3 fases de estudio, lo cual permitió el cumplimiento de los objetivos específicos propuestos, los cuales fueron:

3.4.1 FASE 1: DETERMINACIÓN DEL RANGO DE CONCENTRACIÓN PARA CADA ANALITO EN ESTUDIO

- **Establecimiento del método de análisis**

El principio del método FAME, para la separación y cuantificación de ácidos grasos, es una transformación a esteres metílicos, por cromatografía de gases en columna capilar, basado en la metodología AOCS Ce-1h-05 (AOCS, 1998).

Pueden medirse todos los ácidos grasos desde C4:0 hasta C26:0 tanto de aceites vegetales como animales. También se pueden determinar los isómeros trans, y los isómeros por posición del doble enlace. Las reacciones de trans esterificación y de desplazamiento del doble enlace características de los procesos de hidrogenación pueden ser monitoreadas por este método.

El análisis de perfil FAME fue efectuado en un cromatógrafo de gases modelo GC TRACE 1 300-1 310 Método 1 (ver Figura 2), con un detector FID (llama ionizable), columna capilar de sílice 100m x 0.25 mm x 0.20 μ m.



Figura 2: Cromatógrafo de gases
Fuente: Autores de tesis

La preparación de la muestra estuvo basada en el método AOCS Ce-2-66 (AOCS, 1998). Para ello se tomaron 10 mg de muestra con pipetas desechables de vidrio y/o plásticas en un tubo de ensayo de 10 ml con tapas enroscables, se le adicionó 1.5 ml de solución metanólica de hidróxido de sodio de concentración 0.5 N. Se cerró el tubo y se lo sometió a baño maría durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se lo retiró y se lo dejó enfriar.

Una vez que se enfrió la solución, se le adicionó 2 ml de trifluoruro de boro en forma de solución metanólica. Se tapó el tubo de ensayo y nuevamente se lo sometió a baño maría durante 15 minutos, luego de lo cual se lo dejó enfriar.

Posteriormente se le adicionó 2 ml de isooctano cromatográfico y 2 ml de solución saturada de cloruro de sodio. Entonces se cerró el tubo de ensayo y se lo agitó intensamente por un período mínimo de 1 minuto, una vez en reposo se formaron dos capas, una inferior acuosa (conteniendo cloruro de sodio, hidróxido de sodio) y otra superior grasa (conteniendo ésteres metílicos de ácidos grasos en isooctano).

Con una micro jeringa graduada de 10 μ l, se tomó 1 μ l del solvente conteniendo los esterios metílicos y se lo introdujo por el puerto de inyección del cromatógrafo previamente preparado para la corrida del análisis.

El comportamiento de la temperatura en la columna (Oven Temperatura) presentó 140°C al inicio y 250°C al final (análisis con gradiente de temperatura; al cabo de 4 min empezó el paso de 140 a 250°C al ritmo de 4°C/min) con un flujo de gas carrier (helio) de 1 ml/min.

- **Selección y preparación de muestras**

Una vez que se obtuvieron los resultados se procedió a realizar un set de muestras con diferentes tipos de aceite, ya que tenían perfiles de ácidos grasos particulares, y de esta manera tener la cantidad necesaria de muestras para desarrollar el modelo matemático adecuado a las necesidades.

- **Escaneo e ingreso de datos de laboratorio**

Una vez identificada las muestras y teniendo los datos de laboratorio por medio de la integración en el software del cromatógrafo de gases de referencia, estas muestras limpias (filtradas) y secas (sin humedad) se precalentaron a 35°C en el equipo, cuando se encontraban a la temperatura adecuada, se realizó el escaneo en el equipo NIRFlex N-500 de la marca BUCHI (ver Figura 3), propiedad de La Fabril S.A. el cual posee una unidad de temperatura controlable. El equipo cuenta con dos módulos analizadores uno es transmitancia, por paso de luz el utilizado para nuestro estudio y otro de transflectancia basándose en una mezcla de reflexión y absorción de luz para muestras sólidas o con característica diferentes. Cada análisis, una vez estabilizada la temperatura del módulo, tomó alrededor de 1 minuto la lectura de la muestra.



Figura 3: Equipo NIRFlex N-500
Fuente: Autores de la investigación.

Para ingresar los parámetros a controlar, previamente se elaboraron las bases de datos, con los componentes que eran necesarios, en las cuales se ingresaron los datos de laboratorio, para este caso, el perfil de ácidos grasos.

3.4.2 FASE 2: ELABORACIÓN DE LA MATRIZ DE LOS ESPECTROS PARA CADA UNO DE LOS ÁCIDOS GRASOS

- **Análisis de los espectros en el software del equipo nirflex N-500**

Después de finalizar la medición de las muestras de referencia, en el software del equipo, se pasó la información a la NIRWare Management Console para continuar con la etapa siguiente en el desarrollo de la aplicación: la asignación y los valores de las propiedades. En este caso, se otorgó al ordenador la identidad de la sustancia detrás de cada espectro.

Luego se creó una calibración con NIRCal, usando el set de datos de espectros de las muestras de referencia con propiedades asignadas a determinar, previamente en el software interno del equipo NIRWare donde el asistente muestra una lista de calibraciones con valores Q por encima del 0.6 quedando activa la óptima, eficaz e idónea para el uso.

Antes de empezar con los cálculos, se reconsideró que se tenían muestras de referencia con 5 valores de propiedades. Es imposible desarrollar solo una calibración para determinar todas las propiedades; así que se necesitaron crear 5 calibraciones, una para cada propiedad.

3.4.3 FASE 3: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS NIR Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

- **Tratamiento de datos**

Una vez obtenida la base de datos con los porcentajes de ácidos grasos en los diferentes aceites crudos utilizando el equipo NIRFlex N-500 y los datos del equipo de cromatografía gaseosa, se procedió a seleccionar 20 muestras aleatorias de aceites crudos (5 de aceite oliva extra virgen, 5 de aceite canola cruda, 5 de aceite de soya y 5 de aceite girasol) las cuales fueron sometidas al análisis de perfil de ácidos grasos con los dos métodos empleados, todo esto se llevó a cabo en el laboratorio de Control de calidad de la Fabril S.A.

Para el análisis de la comparación de los datos obtenidos en ambos equipos, se utilizó el software Statgraphics Centurion XVII.II Español.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 FASE 1: DETERMINACIÓN DEL RANGO DE CONCENTRACIÓN PARA CADA ANALITO EN ESTUDIO

Los cromatogramas de las figuras (fig.4, 5, 6, 7) muestran de una manera más clara los ácidos grasos principales de cada uno de los aceites utilizados, sus características específicas y la diferenciación de las composiciones entre sí.

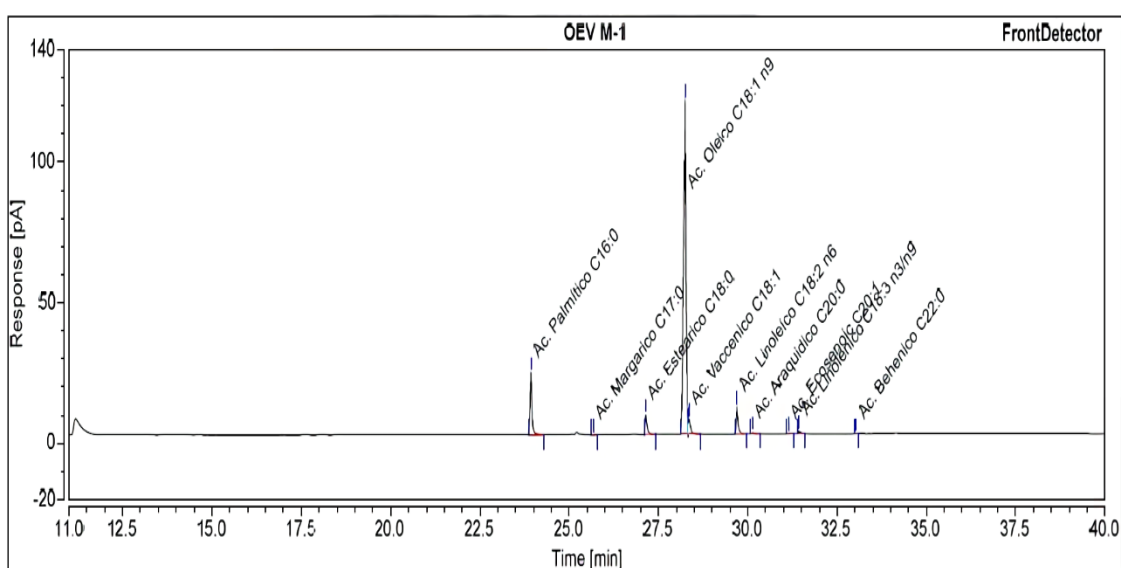


Figura 4: Cromatograma del aceite extra virgen
Fuente: Autores de la investigación.

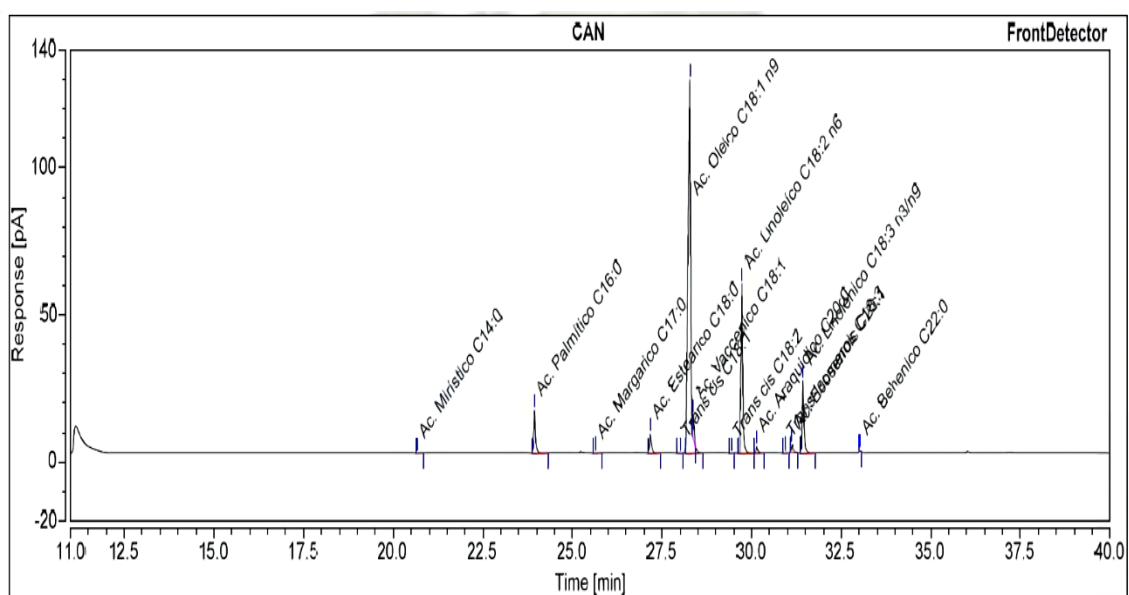


Figura 5: Cromatograma del aceite de canola
Fuente: Autores de la investigación.

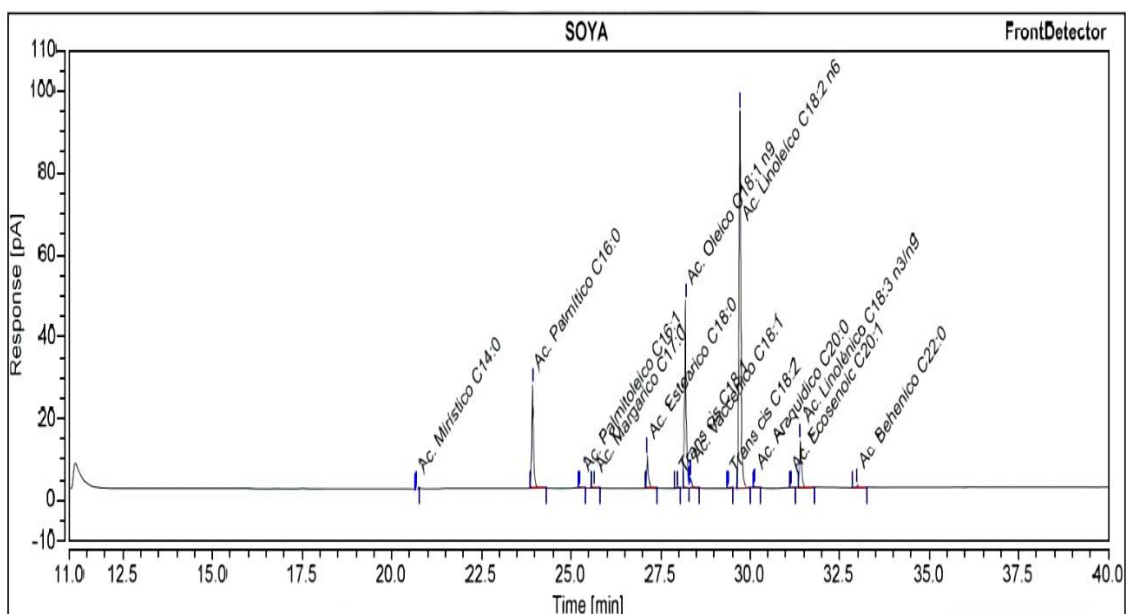


Figura 6: Cromatograma del aceite de soya
Fuente: Autores de la investigación.

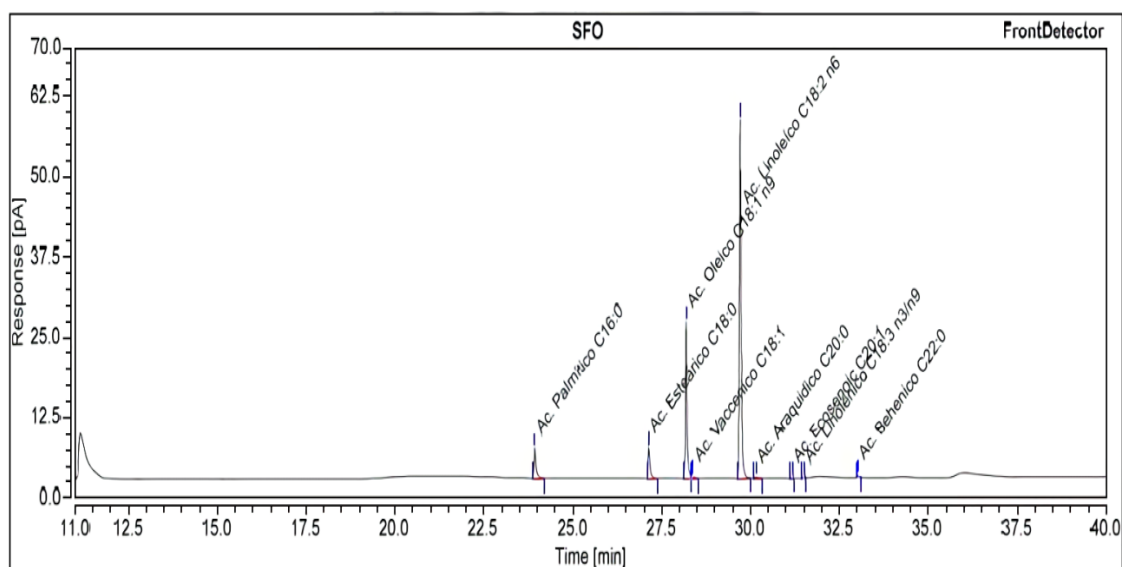


Figura 7: Cromatograma del aceite de girasol.
Fuente: Autores de la investigación.

De acuerdo a los cromatogramas presentados, se puede observar a los principales ácidos grasos en diferentes concentraciones como el palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linoléico en sus respectivos tiempos de retención bajo esta metodología compleja pero precisa y con un nivel alto de exactitud obtenidos en los cuatro aceites crudos que se utilizaron y analizaron como son: la canola cruda, aceite de oliva extra virgen, soya cruda y girasol crudo, evidenciando su diferente naturaleza en base a su composición química, los cuales tienen sus tiempos de retención

similares a los presentados por Valdez, I. L., Farfan, O., Sterner, O., & Turba, A. G. (2009).

4.2 FASE 2: ELABORACIÓN DE LA MATRIZ DE LOS ESPECTROS PARA CADA UNO DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Una vez establecida la cuantificación de cada ácido graso en los diferentes tipos de aceites utilizados para elaborar la matriz en el equipo NIR, se procedió a analizar cada aceite con sus respectivos espectros los cuales se muestran en las siguientes figuras.

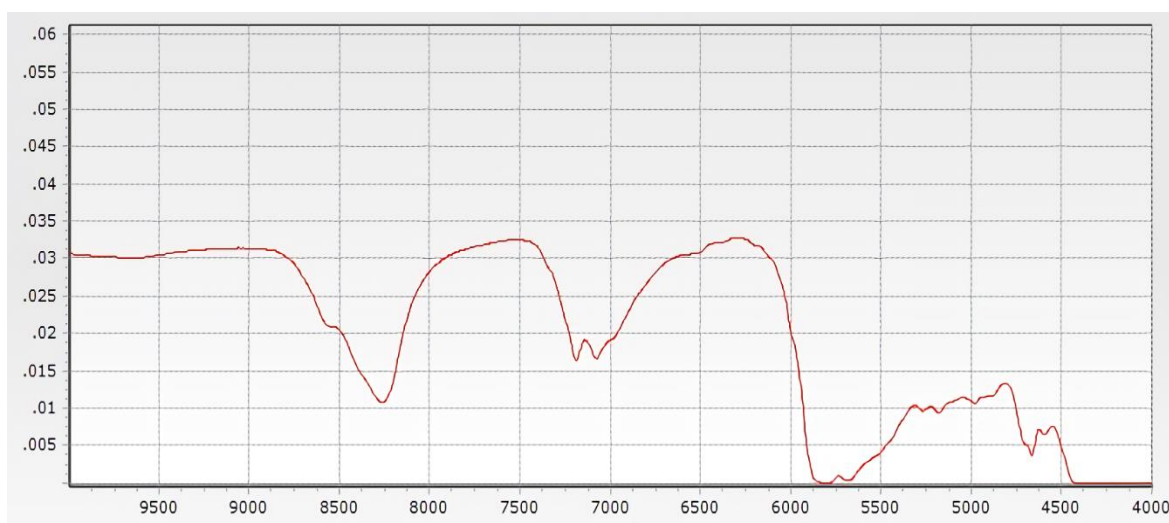


Figura 8: Espectro del aceite de oliva extra virgen.
Fuente: Autores de la investigación.

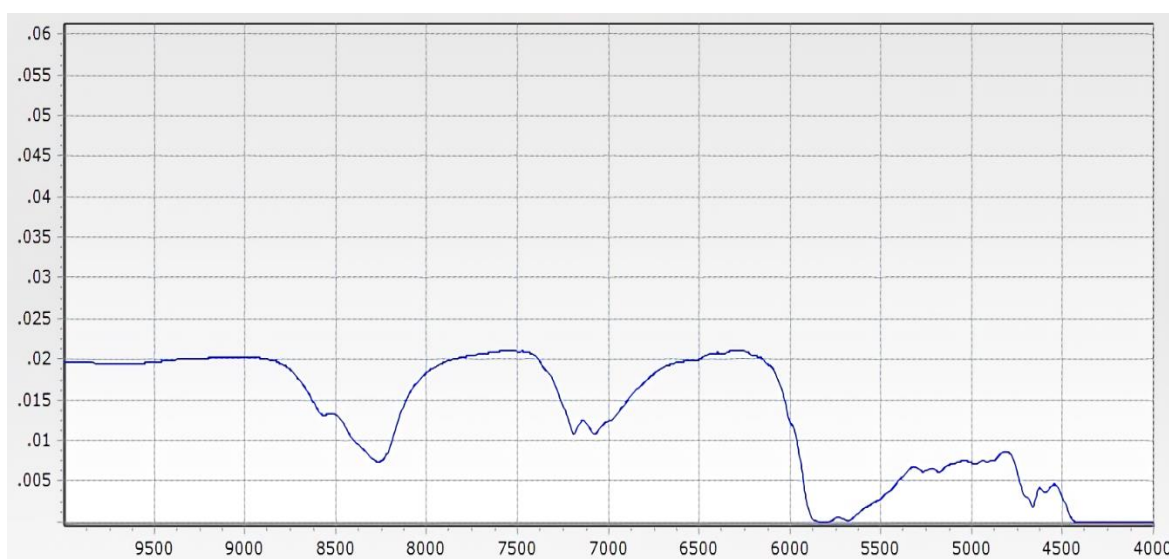


Figura 9: Espectro del aceite de canola.
Fuente: Autores de la investigación.

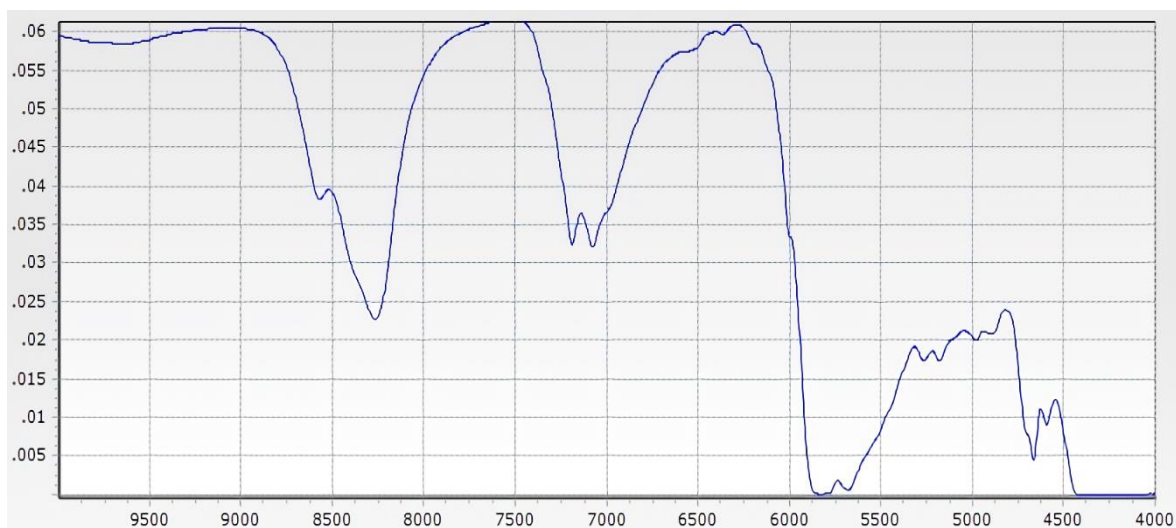


Figura 10: Espectro del aceite de soja.

Fuente: Autores de la investigación.

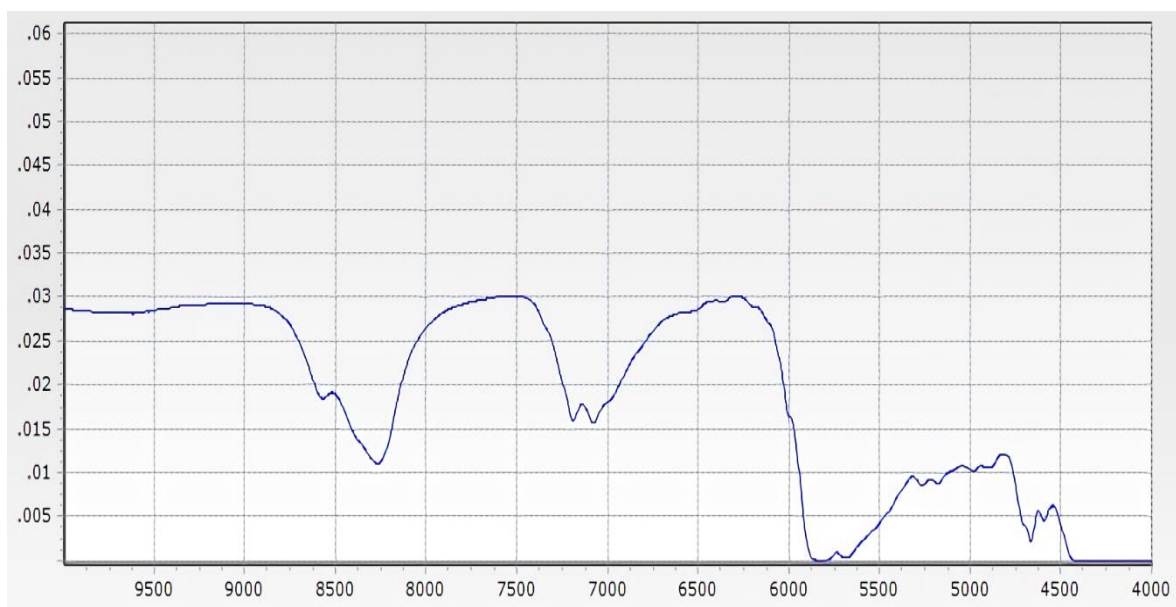


Figura 11: Espectro del aceite de girasol.

Fuente: Autores de la investigación.

Peguero, A. G. (2010) menciona que el espectro del NIR se genera en su mayoría por vibraciones producidas en forma de sobre tonos, como resultado de los enlaces químicos entre C-H, O-H y N-H como el efecto de la incidencia del haz de luz. Los enlaces químicos presentes entre las moléculas generan una vibración y muestran un comportamiento de un movimiento armónico simple. Los espectros mostrados guardan una relación entre sí debido a que tienen el mismo grupo funcional, en este caso ácido carboxílico.

4.3 FASE 3: COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS NIR Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

Gutiérrez y De La Vara (2008), establecieron que cuando se trata de dos muestras cuyos datos tienen algo en común, son poblaciones pareadas, por lo tanto, en esta investigación se realizó una comparación de medias con muestras dependientes; esto se sustenta en que todas las muestras fueron analizadas mediante dos técnicas, cromatografía de gases y NIR.

En primera instancia, se utilizaron los promedios de cada ácido graso en cada tipo de aceite analizado de manera general, lo que generó no significancia ($p > 0.05$) entre ambas metodologías (ver anexo 10). Los valores (promedios) utilizados para esta comparación están en la Tabla 3.

Tabla 3

Valores promedio de cada ácido graso en los tipos de aceite.

TIPO DE ACEITES	MÉTODOS	ÁCIDOS GRASOS				
		C _{16:00}	C _{18:00}	C _{18:01}	C _{18:02}	C _{18:03}
OLIVA	CG	10.58	3.38	76.66	5.04	0.60
	NIR	11.20	3.60	77.63	4.74	0.75
CANOLA	CG	4.61	2.31	62.30	17.59	7.72
	NIR	6.66	2.46	54.14	26.10	6.31
SOYA	CG	11.76	4.11	23.73	51.57	5.90
	NIR	11.05	4.55	24.63	51.64	5.60
GIRASOL	CG	5.52	5.46	25.57	61.69	0.05
	NIR	6.52	4.86	26.41	60.58	0.58

Nota: Los resultados están expresados en porcentaje. Elaborado por autores de la investigación.

Se procedió a realizar una comparación más específica entre las dos metodologías utilizando el dato de cada ácido graso de cada muestra de aceite, es decir de esta forma se buscó de manera más detallada si ambos métodos (CG y NIR) pudieron arrojar iguales o diferentes resultados al momento de determinar cada ácido graso en los aceites utilizados en esta investigación. Por lo tanto, se muestran a continuación los resultados por tipo de aceite.

4.3.1. ANÁLISIS EN EL ACEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEN

Como se observa en la Tabla 4, en todos los análisis el p-valor es mayor a 0.05, lo que indica que tanto la cromatografía de gases como la metodología NIR dan resultados satisfactorios y confiables en la determinación de todos los ácidos grasos en el aceite de oliva extra virgen.

Tabla 4
p-valores en aceite de oliva

ÁCIDOS GRASOS	OLIVA EXTRA VIRGEN										
	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Estadístico
	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	Valor P
C16:0	9.98	10.23	10.63	11.9	9.98	11.16	10.02	11.01	12.27	11.69	0.1502 ^{NS}
C18:0	3.57	3.64	3.1	3.8	3.56	3.67	3.53	3.57	3.14	3.35	0.1374 ^{NS}
C18:1	77.7	78.63	77.37	76.69	77.7	78.36	77.98	77.87	72.54	76.61	0.3029 ^{NS}
C18:2	4.59	4.04	4.56	5.97	4.37	5.53	4.35	4.37	7.32	3.81	0.7554 ^{NS}
C18:3	0.59	0.62	0.63	0.54	0.59	0	0.59	0.53	0.58	2.06	0.6816 ^{NS}

Nota: Todos los valores de tabla corresponden a porcentajes (%), excepto el p-valor.

^{NS} valores no significativos $p > 0.05$. Elaborado por autores de la investigación.

Lo demostrado por Bolaños (2016), con la descomposición de la matriz de datos espectrales obtenido por el NIR, analizados como matriz donde se combinan de manera lineal las variables originales (absorbancia y número de onda), permite obtener datos que siguen una variación máxima, que evidentemente es una variable oculta de la muestra de estudio, en este caso una diferenciación del tipo de aceite como el de oliva extra virgen mostrado en los resultados obtenidos en este desarrollo. El resultado experimental demuestra que de manera rápida se puede realizar el análisis de calidad del producto que está de venta en el mercado y su caracterización.

4.3.2 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE CANOLA CRUDA

En el caso de la canola, se muestran los resultados del análisis y del p-valor de la determinación de ácidos grasos en la tabla 5.

Tabla 5
p-valores en aceite de canola

ÁCIDOS GRASOS	CANOLA CRUDA										
	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Estadístico
	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	Valor P
C16:0	4.72	6.6	4.67	6.34	4.47	6.54	4.62	7.69	4.59	6.14	0.0016 **
C18:0	2.18	2.94	2.11	2.65	2.43	2.22	2.36	2.29	2.47	2.22	0.4994 NS
C18:1	63.01	54.2	63.33	55.3	60.93	55.08	61.18	53.09	63.06	53.05	0.0003 **
C18:2	16.97	26.05	16.68	26.38	17.85	24.88	18.09	25.63	18.35	27.56	0.0001 **
C18:3	7.52	5.38	7.58	5.04	7.88	7.78	7.79	7.37	7.85	5.98	0.0436 *

Nota: Todos los valores de tabla corresponden a porcentajes (%), excepto el p-valor.

NS valores no significativos $p > 0.05$

** valores significativos $p < 0.05$*

*** valores muy significativos $p < 0.01$. Elaborado por autores de la investigación.*

Con el análisis estadístico, sólo para la determinación del ácido esteárico (C_{18:0}) ambas metodologías arrojan resultados sumamente similares; sin embargo, denota una diferencia significativa para la determinación de los otros cuatro ácidos grasos en estudio que son; el palmítico (C_{16:0}), el oleico (C_{18:1}), el linoleico (C_{18:2}) y el linolénico (C_{18:3}).

Las diferencias pueden deberse a errores en los métodos espectrofotométricos según (Daun & Thorsteinson, 1989), causados por la matriz de componentes presente o a las diferentes fuentes y diferentes contenidos de humedad de las semillas. En las pruebas realizadas con métodos espectrofotométricos, las muestras de aceite de canola mostraron diferencias significativas debido a la principal especie de clorofila presente feofitina, interfiriendo el paso de la luz a través de la muestra, ya que, debido a ser su principal pigmento presente en el aceite, provoca que el método sea poco confiable e inexacto al momento de diferenciar cada uno de los ácidos grasos.

Se procedió a realizar un análisis de los ácidos insaturados totales de la canola cruda entre los métodos como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6
p-valor en ácidos insaturados totales de la canola

ÁCIDOS GRASOS	CANOLA CRUDA										
	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Estadístico
	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	Valor P
T. Insat	87.5	85.63	87.59	86.72	86.66	87.74	87.06	86.09	89.26	86.59	0.1664 ^{NS}

Nota: Todos los valores de tabla corresponden a porcentajes (%), excepto el p-valor.
^{NS} valores no significativos $p > 0.05$. Elaborado por autores de la investigación.

Como podemos observar en la tabla 6, se sustenta que en la composición de ácidos grasos insaturados totales no existe una mayor diferencia como también lo manifestó en las pruebas de clorofilas totales; esto también demostrado estadísticamente en esta investigación.

4.3.3 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE SOYA

Los resultados de p-valores obtenidos para la determinación de ácidos grasos en el aceite de soya se muestran en la tabla 7.

Tabla 7
p-valores en aceite de soya

ÁCIDOS GRASOS	SOYA										
	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Estadístico
	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	Valor P
C16:0	11.86	11.41	11.73	11.32	12	11.11	11.67	10.54	11.54	10.89	0.0068 **
C18:0	4.25	3.58	4.23	4.85	4.15	4.93	4	5.38	3.9	4.03	0.2621 ^{NS}
C18:1	25.09	27.82	23.44	23.86	23.12	23.94	23.25	23.28	23.75	24.25	0.1307 ^{NS}
C18:2	51.71	48.91	50.75	53.19	51.6	51.04	52.15	52.95	51.62	52.11	0.9359 ^{NS}
C18:3	5.76	6.29	5.58	4.69	6.18	6.57	6.06	4.78	5.93	5.66	0.4362 ^{NS}

Nota: Todos los valores de tabla corresponden a porcentajes (%), excepto el p-valor.

^{NS} valores no significativos $p > 0.05$

** valores muy significativos $p < 0.01$ Elaborado por autores de la investigación.

Según el estadístico indica que para la determinación del ácido palmítico (C_{16:0}) en el aceite de soya, las metodologías en estudio no obtienen resultados favorables; mientras que, en la determinación de los otros cuatro ácidos grasos, éstas proporcionan resultados más confiables y sin diferencias significativas.

La investigación de Kim (2007), afirma que la determinación del contenido de aceite y la composición de ácidos grasos (ácido oleico y linolénico) se puede predecir con precisión confiable utilizando el análisis NIRS, como se observa en el aceite de soya cruda con los resultados obtenidos. Además, manifiesta que se requiere la disponibilidad futura de muestras que cubran un amplio rango de valores de referencia para obtener una predicción precisa del ácido palmítico, esteárico y linoleico. Con este método NIR no destructivo podría simplificar el análisis de factores cualitativos de interés incluso de aceites de mayor obtención y consumo, porque no se requerían pasos de extracción con solventes orgánicos y las muestras completas se analizaron fácilmente en unos pocos minutos. Para el análisis de numerosas muestras, el método NIR es capaz de reemplazar a los métodos analíticos cromatográficos. Sin embargo, las muestras a determinar son muy diferentes de las muestras de calibración a menudo no se predicen de manera confiable. Es probable que esto se deba a diferentes condiciones, como especies, área de cultivo, métodos de secado y almacenamiento, e influencias de la variación genética y ambiental, como las utilizadas en nuestra elaboración de matriz ya que algunas son provenientes de varios países de Sudamérica.

4.3.4 ANÁLISIS EN EL ACEITE DE GIRASOL

Para el análisis de la determinación de ácidos grasos en el aceite girasol comparando las metodologías CG y NIR, los resultados se muestran en la tabla 8.

Tabla 8
p-valores en aceite de girasol

ÁCIDOS GRASOS	GIRASOL										Estadístico Valor P
	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		
	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	CG	NIR	
C16:0	5.45	5.79	5.45	6.03	5.54	7.37	5.6	6.9	5.54	6.51	0.019 *
C18:0	5.27	4.99	5.37	4.91	5.5	4.76	5.44	4.62	5.7	5.04	0.0038 **
C18:1	25.53	25	26.18	26.09	25.83	27.13	25.39	27.23	24.94	26.6	0.1571 NS
C18:2	62.19	61.19	61.55	61.51	60.88	59.9	61.99	59.1	61.83	61.22	0.0826 NS
C18:3	0	0.39	0	0.41	0.1	1.4	0.07	0.35	0.07	0.36	0.0507 NS

Nota: Todos los valores de tabla corresponden a porcentajes (%), excepto el p-valor.

NS valores no significativos $p > 0.05$

** valores significativos $p < 0.05$*

*** valores muy significativos $p < 0.01$. Elaborado por autores de la investigación.*

El estadístico señala que la cromatografía de gases y el NIR no arrojan iguales resultados cuando se trata de la determinación de los ácidos: palmítico y esteárico. Mientras que muestran similitud en la determinación de los ácidos: oleico, linoleico y linolénico, aunque en este último la confiabilidad de los resultados muy baja y por ende no resulta ser muy preciso.

La calibración en la matriz elaborada, demostró ser muy satisfactoria como indica para la discriminación de los ácidos: oleico y linoleico, además de ser más rápida y no destructiva Grunvald et al. (2010). Este estudio según Cantarelli et al., (2009), muestra el resultado de una investigación completa para la determinación del ácido oleico por análisis directo en semillas de flores solares, utilizando reflejos difusos cercanos a infrarrojos, espectroscopía y evaluación de datos por calibración. Debido al hecho de que el tratamiento previo de las muestras fue mínimo, este método puede ser útil para el análisis rápido del ácido oleico en semillas de girasol y también para el control de calidad de la materia prima en fábricas de aceite comestible y biodiesel, como en la que la que realizamos dicho estudio.

Para el desarrollo de estas matrices en el NIR para ácidos grasos individuales representa solo un primer paso en este proyecto como también lo indicó Kim Park, y Choung, (2007), aunque NIR es un método práctico, las ecuaciones deben actualizarse, expandirse y mejorarse con muestras futuras de diferentes ambientes y germoplasmas y cubrir una gama más amplia de aceites y grasas, valores de concentraciones de ácidos de las muestras utilizadas para los modelos de calibración.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La técnica NIR permite clasificar y cuantificar adulteraciones de aceite con naturalezas de origen distintas, de una manera fácil y rápida, pero necesariamente sí se aplica un pretratamiento espectral.
- Aunque la información de los espectros NIR tiende a ser algo complicada y difícil de interpretar, cada técnica establece una relación matemática entre las variaciones en los espectros NIR y los respectivos análisis y tratamiento estadístico de los datos.
- Con los resultados obtenidos queda demostrado la capacidad de predicción utilizando un método NIR, mostrando una alta confiabilidad, predicción y optimización de recursos al ser una técnica no destructiva.
- Los resultados al ser favorables con la composición de ácidos grasos insaturados en estos aceites nos demuestran que puede utilizarse para determinar rápidamente el contenido de cada uno ellos, a excepción de la canola cruda por su principal compuesto de clorofilas, optimizando recursos y realizando un control más rápido en los procesos industriales.

5.2.- RECOMENDACIONES

- Este modelo equipo NIRFlex N-500 de la marca BUCHI, también cuenta con otro módulo el cual realiza mediciones de reflectancia para muestras sólidas, con el que se pueden realizar pruebas futuras en la determinación de los ácidos grasos en el aceite de canola cruda.
- Otra de las ventajas del método NIR y con este desarrollo de matrices y modelos matemáticos, es que también pueda utilizarse para realizar otras pruebas y determinar otros componentes en el control de calidad, como proteínas, agua y compuestos funcionales, lo que nos confirma que este método es capaz de reemplazar otros métodos analíticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalá, M. (2006). Utilización de la espectroscopia NIR en el control analítico de la industria farmacéutica desarrollos iniciales en PAT: Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Alfaro, J. D. B. (2016). El método NIR combinado con el análisis quimiométrico PLS-da para determinar la adulteración del aceite de oliva con aceite de girasol. *Pensamiento Actual*, 16(26), 163-172.
- AOCS. (1998) Official Methods and Recommended of de AOCS. 5° Edition First Printing, Editor Dr. David Firestone of Analytical Methods.
- Cabezas, C., Hernández, B. & Vargas, M. (2016). Fat and oils: Effects on health and global regulation. *Revista de la Facultad de Medicina*, 64(4), 761-768.
- Castro, M., Herrera, C., & Lutz-Cruz, G. (2005). Composición, caracterización y potencial aterogénico de aceites, grasas y otros derivados producidos o comercializados en Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*, 47(1), 36-42. from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022005000100006&lng=en&tlng=es
- Castro, M. I. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27(3), 128-136.
- Cueva, R. E. (2012). Aplicación de la espectroscopía NIR para la determinación de parámetros críticos en la fabricación de comprimidos en la industria farmacéutica. *Universidad Autònoma de Barcelona*.
- Daun, J. K. y Thorsteinson, C. T. (1989). Determination of chlorophyll pigments in crude and degummed canola oils by HPLC and spectrophotometry. 66(8), 5.
- Durán, S., Torres, J. y Sanhueza, J. (2015). Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 11-19.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, & Fundación Iberoamericana de Nutrición. (2012). *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana: Consulta de expertos: 10-14 de noviembre de 2008 Ginebra*. FAO FINUT
- Galarza, J. E. (2018). Uso de tecnología adecuada dentro del laboratorio en la industria alimentaria <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3593>
- Gallegos, J., Rocha, N., González, R., Zuno, F. y Vidaña, S. (2003). Caracterización de dos variedades de girasol con potencial para la producción de aceite extraídos con hexano e isopropanol. *Grasas y aceites*, 54(3), 245-252.
- Giacopini de Zambrano, M. (2012, December). El aceite canola y sus efectos en la

- salud. In *Anales Venezolanos de Nutrición* (Vol. 25, No. 2, pp. 94-99). Fundación Bengoa.
- Gomis, V. (2008). Tema 3. Cromatografía de gases. Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial.
- Gutierrez, H. y De La Vara, R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. *Editorial Mc Graw Hill*.
- Gutiérrez, M. y Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter*, juliol 2002, núm. 122, p. 35-41.
- Gutiérrez, R., Díaz, G., Vega, S., Méndez, I., Delgadillo, H., Pérez, N. y Pinto, M. (2014). Determinación de los niveles de triglicéridos (%p/p) presentes en grasas de origen animal y vegetal mediante la técnica de cromatografía de gases capilar. Universidad Austral de Chile.
- Gutiérrez, S. I. (2017). Fundamentos básicos de instrumentación y control. En M. d. Kure, *Fundamentos básicos de instrumentación y control*. Península de Santa Elena: UPSE.
- Grunvald, A., Carvalho, C., Andrade, C., Mandarino, J., Leite, R., Gonçalves, J., & Gonçalves, S. (2010). Utilização da técnica de espectrofotometria do infravermelho próximo (nir) para análise discriminante dos ácidos graxos oléico e linoléico de genótipos de girassol. *Embrapa soja-documentos (infoteca-e)*.
- Hill, K. (2000). Grasas y aceites como materias primas oleoquímicas. *Química pura y aplicada*, 72 (7), 1255-1264.
- Iturralde, S. y Gutiérrez, M. (2017). Fundamentos básicos de instrumentación y control. Serie de textos académicos de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Universidad Estatal Península de Santa Elena.
- Kim, KS, Park, SH y Choung, MG (2007). Determinación no destructiva del contenido de aceite y la composición de ácidos grasos en las semillas de perilla por espectroscopía de infrarrojo cercano. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 55 (5), 1679-1685.
- Moreda, W., Pérez, M. E. y Cert, A. (1995). Determinación de algunos parámetros de pureza en aceites de oliva. Resultados de un estudio colaborativo. *Grasas y aceites*, 46(fasc. 4-5), 279-284.
- Ocampo, J. F. (2015). Estandarización de las curvas de calibración por la metodología NIR y la química húmeda en las materias primas y carnes frías para la optimización de las respuestas de análisis (Doctoral dissertation, Corporación Universitaria Lasallista).
- Oliveras, M. J. (2005). Calidad del aceite de oliva virgen extra: antioxidantes y

función biológica.

- Ortiz, R. E. (2014). Efecto del aceite esencial de orégano *Lippia origanoides* Kunth en el desempeño productivo de ponedoras marrón y la peroxidación lipídica de huevos enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados durante su almacenamiento (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
- Palma, S. (2014). Determinación de las características físico-química y sensoriales del helado elaborado a base de leche de soya (*Glycine max*) (Doctoral dissertation).
- Peguero, A. (2010). La espectroscopía NIR en la determinación de propiedades físicas y composición química de intermedios de producción y productos acabados. *Universidad Autónoma de Barcelona*.
- Peña, A. y Castillo, A. (2015). Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pons, G. A. (2015). Aceites vegetales, hacia una producción sostenible. Universidad Autónoma de Occidente Colombia.
- Ramírez, P. A. H., García, M. D. C. J. & Valdés, M. H. R. (2007). Determinación materna del contenido de aceite en semillas de girasol. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(1), 39-42.
- Salguero, L. (2013). Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación on-line de parámetros de control y calidad alimentaria en aceitunas intactas. Universidad de Córdoba. Departamento de Bromatología y tecnología de los alimentos, 361.
- Sánchez, A. G., Martos, N. R. & Ballesteros, E. (2005). Estudio comparativo de distintas técnicas analíticas (espectroscopía de NIR y RMN y extracción mediante Soxhlet) para la determinación del contenido graso y de humedad en aceitunas y orujo de Jaén.
- Sánchez, F. (2007). Aceite de oliva, clave de la vida en la Cuenca Mediterránea. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, 40.
- Sánchez, R., Fernández, M. & Nolasco, S. (2015). Aceite de canola: estudio exploratorio de extracción con etanol. Argentina.
- Sanhueza, J., Nieto, S. y Valenzuela, B. (2002). Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. *Revista chilena de nutrición*, 29(2), 98-105.
- Skoog, D., Holler, J. y Nieman, T. (2001). Principios de análisis instrumental. Madrid: Edigrafos S.A.

Terevinto, A. (2013). Técnicas de análisis de materia grasas *Fagro*. Recuperado el 18 de mayo de 2019, de <http://www.fagro.edu.uy/~nutrical/ensenanza/AVI%20WEB/cursoema/MGTecnicas.pdf>

Valdez, I. L., Farfan, O., Sterner, O., & Turba, A. G. (2009). Estudios preliminares de la caracterización química de ácidos grasos del aceite de frutos de *Bertholletia excelsa* por cromatografía de gases Preliminary studies about the chemical characterization of fatty acids from *Bertholletia excelsa* fruit's oil by gas chromatography. *Biofarbo*, 17(1), 47-53.

ANEXOS

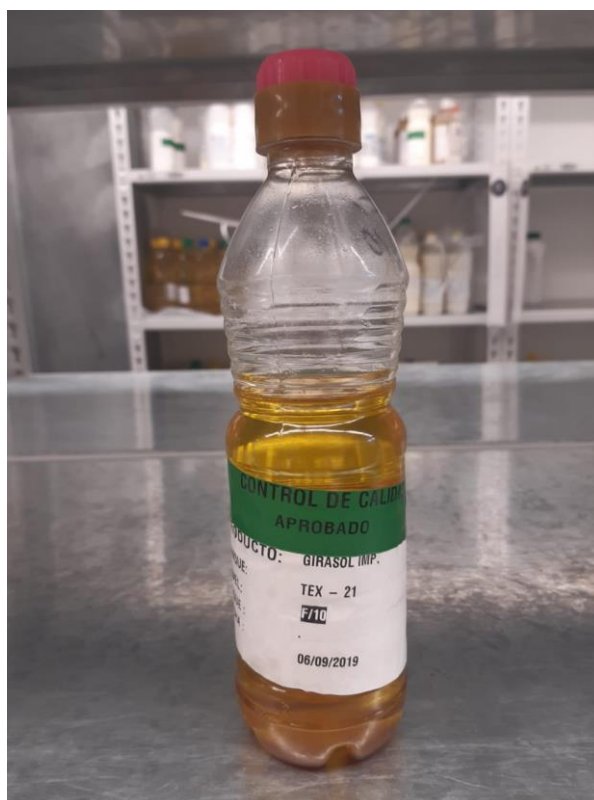
Anexo 1.- Presupuesto y fuentes de financiamiento

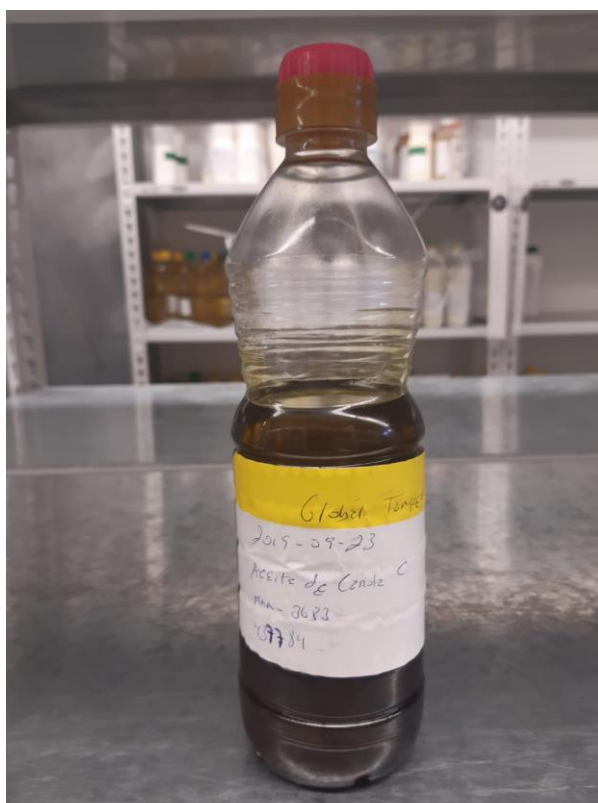
Actividad	Detalle	Cantidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$	Financiamiento
METODOLOGÍA NIR EN LA DETERMINACIÓN RÁPIDA DE ÁCIDOS GRASOS EN ACEITES CRUDOS. ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD LA FABRIL S.A.	Toma de muestra c/u	130	2	260	Autores / La Fabril S.A.
	Análisis cromatográfico de perfil de ácidos grasos	130	50	6 500	Autores / La Fabril S.A.
	Análisis de perfil de ácidos grasos NIR	130	5	650	Autores / La Fabril S.A.
Presentación del proyecto	Impresiones	4	15	60	Autores
	CD	3	1	3	Autores
TOTAL				7 473	

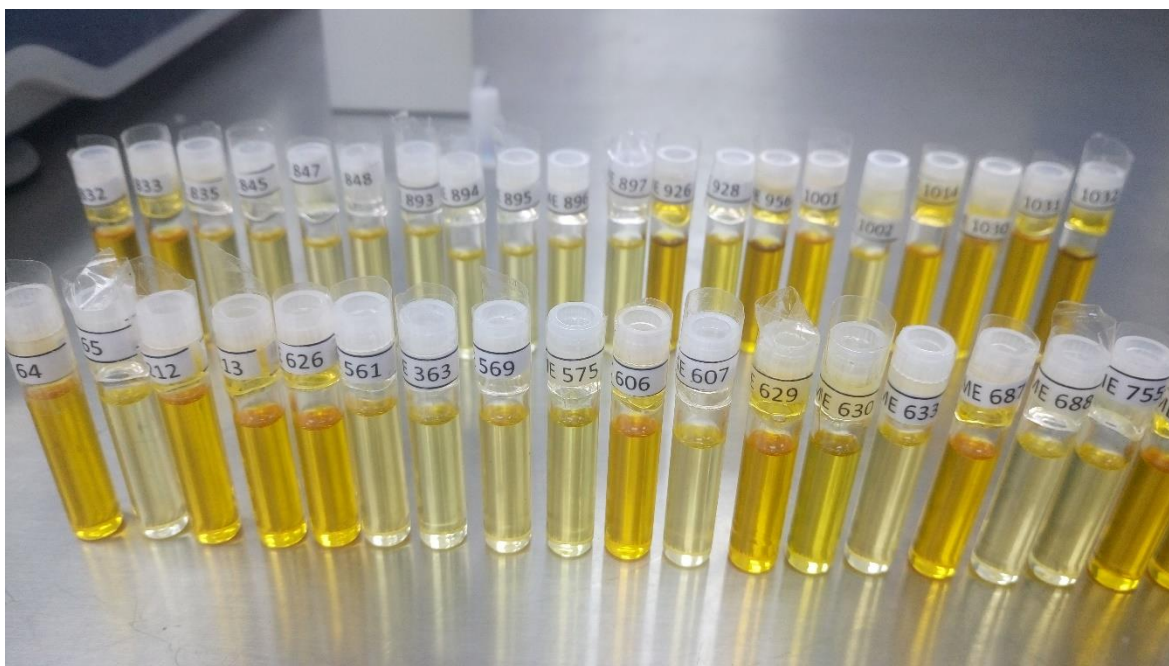
Anexo 3.- Aceite de soya



Anexo 4.- Aceite de girasol



Anexo 5.- Aceite de oliva extra virgen**Anexo 6.- Aceite de canola**

Anexo 7.- Obtención de muestras de aceites para ser analizadas en CG.**Anexo 8.-** Muestras de aceites para ser analizadas en CG.

Anexo 9.- Muestras de aceites para ser analizadas en el NIR.**Anexo 10.- Prueba de Hipótesis con promedios CG-NIR****Muestras Pareadas - CG & NIR****Prueba de Hipótesis para CG - NIR**

Media Muestral = -0.1935

Mediana Muestral = -0.185

Desviación Estándar de la Muestra = 2.81887

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.306988

Valor-P = **0.762192**

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Anexo 11.- Prueba de Hipótesis con datos del ácido oleico en la canola CG-NIR**Muestras Pareadas - CG & NIR****Prueba de Hipótesis para CG - NIR**

Media Muestral = 8.16

Mediana Muestral = 8.09

Desviación Estándar de la Muestra = 1.51789

Prueba t

Hipótesis Nula: media = 0

Alternativa: no igual

Estadístico t = 12.0208

Valor-P = 0.000274558

Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Anexo 12.- Diagrama de bloques. Comparación de métodos