



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Determinación del contenido de azúcares reductores, totales, almidón y de los elementos minerales Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg) en harinas de Amarantho variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), Chía (*Salvia Hispanica L.*), Papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum*), y Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*)

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previa la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

El estudio es parte del proyecto de investigación: PCEDIA012 “Valorización de la calidad nutricional de alimentos tradicionales de la población ecuatoriana” perteneciente a la RED de CEREALES de la Red Ecuatoriana de Universidades (REDU)”, aprobado por el Honorable Consejo Universitario con Resolución 2074-CU-P-2016. Financiado por La Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Ambato.

Autora: Irene Raquel Alcocer Villacís

Tutora: Mg. Cecilia Mercedes Carpio

Ambato- Ecuador

Julio 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Cecilia Mercedes Carpio

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 31 de Enero del 2018



Mg. Cecilia Mercedes Carpio

C.I. 170462765-0

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Irene Raquel Alcocer Villacís, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniera en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Irene Raquel Alcocer Villacís
C.I. 050335300-5
AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

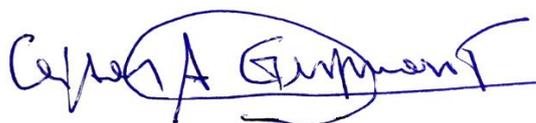
Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Dr. Jorge Alexander Briceño Carrasquel
C.I. 610328879-8



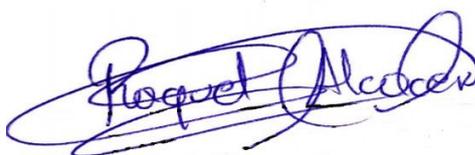
Mg. César Augusto Germán Tomalá
C.I. 180116710-5

Ambato, 09 de julio del 2018

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Irene Raquel Alcocer Villacís

C.I. 050335300-5

AUTOR

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado salud, fortaleza y haberme permitido llegar hasta este punto de mi vida para lograr mis objetivos, por estar siempre conmigo en cada paso que doy, y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi apoyo y compañía durante todo este periodo de estudio.

*A mis padres Ángel y Georgina por haberme dado la vida, por su paciencia, por su amor, por su ejemplo de perseverancia y constancia que me inspiraron a ser mejor cada día, por su apoyo incondicional y sacrificio en todos estos años que me han permitido llegar hasta aquí y cumplir un sueño más.
¡Gracias por darme una carrera para mi futuro, los amo!*

A la memoria de mi abuelita Rufina a quien llamaba mamá Rufina quien falleció poco antes de ver culminada mi tesis; por haber sido una mujer excepcional, dedicada a su familia y que ayudó en mi crianza con mucho amor. Tu recuerdo vivirá en mi corazón por siempre y sé que desde el cielo me vas a proteger.

A mis hermanas Ivonne y Vicky por estar conmigo en todo momento apoyándome, por ser mis amigas y confidentes en quienes siempre podré confiar, las quiero mucho.

A mi sobrinita Monse que con sus risas y ocurrencias alegra mis días y me haces sentir muy afortunada de tenerte.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por todas las bendiciones recibidas a lo largo de mi vida.

A mis padres, hermanas y sobrina por su confianza, paciencia, estabilidad emocional, económica y sentimental para poder llegar a culminar esta meta.

A la Ingeniera Cecilia Carpio mi tutora de tesis y al Doctor Jorge Briceño por toda la paciencia, por sus conocimientos y valioso tiempo compartidos en la realización de este proyecto.

A la Doctora Mayra Paredes coordinadora del proyecto 2074-CU-P-2016 "Valorización de la Calidad Nutricional de Alimentos Tradicionales de la Población Ecuatoriana" perteneciente a la RED de CEREALES de la Red Ecuatoriana de Universidades REDU, por haber confiado en mis capacidades y permitirme desarrollar este trabajo, además al apoyo de la Dirección de Investigación y Desarrollo DIDE-Universidad Técnica de Ambato.

A mis amigos Belén, Vale, Juanita, Andrés y Sambo con los que compartí momentos buenos y malos de mi vida universitaria que siempre recordaré.

En especial a Magali mi prima y mejor amiga que siempre ha estado apoyándome en las buenas y malas con sus consejos y palabras de aliento cuando más lo he necesitado. Gracias pri T.Q.M. Lo logramos!!

A Jorge quien estuvo conmigo apoyándome y dándome la mano cuando más lo necesitaba, haciendo posible que este trabajo se realice con éxito.

A Javier por su apoyo y amor incondicional, por soportarme en esos momentos difíciles en que sentía que no había solución y brindarme unas palabras de aliento justo cuando lo necesitaba. Te agradezco por toda la ayuda y todo los aportes no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida, por siempre querer lo mejor para mí y convencerme de que lo puedo lograr T.Q.M sin ti no habría sido posible la culminación de este trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	9
EL PROBLEMA	9
1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN	9
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	9
1.3 OBJETIVOS.....	11
1.3.1 Objetivo General.....	11
1.3.2 Objetivos Específicos	11
CAPÍTULO II	12
MARCO TEÓRICO.....	12
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	12
2.2 HIPÓTESIS	14
2.3 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES	14
2.3.1 Variables independientes	14
2.3.2 Variables dependientes	15
CAPÍTULO III.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1 MATERIALES.....	16
3.1.1 Materia Prima	16
3.1.2 Materiales de laboratorio	16

3.1.3	Reactivos.....	17
3.1.4	Equipos	18
3.2	MÉTODOS.....	19
3.2.1	Determinación de humedad	19
3.2.2	Obtención de harinas de las 4 matrices.....	19
3.2.2.1	Proceso para obtener harina de chía (<i>Salvia hispánica L.</i>)	19
3.2.2.2	Proceso para obtener harina de Amaranto (<i>Amaranthus caudatus L.</i>)	20
3.2.2.3	Proceso de obtención de harina de Papa Puca-shungo (<i>Solanum tuberosum spp.</i>)	20
3.2.2.4	Proceso de obtención de harina de Zanahoria Blanca (Figura 17).....	22
3.2.2.5	Determinación de los rendimientos de las harinas	23
3.2.3	Cuantificación de azúcares solubles en alcohol y almidón	24
3.2.3.1	Preparación de las muestras	24
3.2.3.2	Cuantificación de azúcares reductores	27
3.2.3.3	Cuantificación de azúcares reductores luego de la hidrólisis del extracto con invertasa.....	27
3.2.3.4	Cuantificación de azúcares totales	28
3.2.3.5	Cuantificación del Almidón	28
3.2.3.6	Método del Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para cuantificar azúcares reductores	30
3.2.3.7	Curva estándar de Glucosa.....	30
3.2.3.8	Cálculo de azúcares reductores, totales y almidón.....	30
3.2.4	Determinación de las actividades enzimáticas.....	31
3.2.5	Determinación de Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg)	31
3.2.5.1	Calcinación de muestras.....	31
3.2.5.2	Digestión ácida de las cenizas.....	32
3.2.5.3	Curvas de calibración para Calcio, Hierro y Magnesio.	32
3.2.5.4	Determinación de minerales.....	33
3.2.5.5	Cuantificación de minerales	34
	CAPÍTULO IV.....	35
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1	Materia Prima	35
4.1.1	Determinación de humedad	35

4.1.2 Determinación de los rendimientos de las harinas.....	36
4.1.3 Desengrasado de las harinas de Chía y Amaranto.....	37
4.2 Cuantificación de azúcares reductores, totales y almidón mediante el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS).....	38
4.3 Determinación de los elementos minerales: Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg).	41
4.3.1 Determinación de hierro, calcio y magnesio	41
4.3.2 Análisis de hierro, magnesio y calcio en las 4 harinas	41
4.4 Verificación de la hipótesis	44
CAPÍTULO V	45
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
5.1 CONCLUSIONES.....	45
5.2 RECOMENDACIONES	46
BIBLIOGRAFÍA	47
ANEXOS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de Chía (a); Semillas de chía (b).....	1
Figura 2. Planta de amaranto (a); Semilla de amaranto (b) Fuente: (Peralta, 2010)....	2
Figura 3. Papa Puca-shungo	2
Figura 4. Zanahoria Blanca	3
Figura 5. Estructura química de los azúcares reductores	4
Figura 6. Estructura química de la amilosa	5
Figura 7. Estructura química de amilopectina.....	5
Figura 8. Estructura de la sacarosa y la conformación cíclica de cada monosacárido producido.	6
Figura 9. Proyección de Fisher de la conformación de cadena abierta de los reactivos y productos de la isomerización catalizada por base, de D-fructosa (una cetohexosa no reductora) a D-glucosa (una aldohexosa reductora).	6
Figura. 10 Estructura de los reactivos y productos de la reducción del ácido 3,5 dinitrosalicílico de color amarillo a una solución de 3-amino-5 nitrosalicilato de color naranja oscuro, debido a la oxidación de la glucosa a gluconato.....	7
Figura 11. Hidratación de chía usando una relación semilla: agua 1:10 (p/v).....	19
Figura 12. Extracción del mucílago de chía.....	19
Figura 13. Harina de Chía	20
Figura 14. Harina de Amaranto.....	20
Figura 15. Diagrama de flujo de la obtención de harina de papa Puca-shungo (<i>Solanum tuberosum</i> spp.)	21
Figura 16. Harina de papa Puca-shungo pasada por un tamiz de 90 mesh	22
Figura 17. Diagrama de flujo de la obtención de harina de zanahoria blanca sin cáscara (<i>Arracacha xanthorrhiza</i> Bancroft).....	23
Figura 18. Colocación de las muestras en el equipo extractor de grasa con recuperación VELP SCIENTIFICA.....	25
Figura 19. Muestras de azúcar aforadas a un volumen conocido, se trabajó con dos réplicas. De izquierda a derecha Amaranto variedad Alegría (<i>Amaranthus caudatus</i> L.), Chía (<i>Salvia hispánica</i> L.), Papa puca-shungo (<i>Solanum tuberosum</i> spp.) y Zanahoria blanca (<i>Arracacha xanthorrhiza</i> Bancroft).....	26

Figura 20. Harina sin azúcares después de la extracción y secado. De izquierda a derecha Amaranto variedad Alegría (<i>Amaranthus caudatus L.</i>), chía (<i>Salvia hispánica L.</i>), papa puca-shungo (<i>Solanum tuberosum spp.</i>) y zanahoria blanca (<i>Arracacha xanthorrhiza Bancroft</i>).	26
Figura 21. a) Muestras en incubación con α -amilasa termoestable (<i>Bacillus licheniformis</i>), a temperatura de ebullición y una agitación a 400 rpm por 30 min. b) Muestra después de los 30 min de hidrólisis.....	29
Figura 22. a) Regulación del pH a 4,5. b) Muestras en agitación con α -amilasa termoestable (<i>Bacillus Licheniformis</i>) más Amiloglucosidasa (<i>Aspergillus niger</i>) a 50 °C a 400 rpm. C) Muestras de harina completamente hidrolizadas.	29
Figura 23. Enfriado de las capsulas de porcelana en un desecador por 30 min.....	32
Figura. 24 Instrumento empleado. PG Instruments AA500.....	34
Figura. 25 Curva estándar de Glucosa	38
Figura. 26 Concentración de Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) en harinas de amaranto variedad Alegría (<i>Amaranthus caudatus L.</i>), de chía (<i>Salvia hispánica L.</i>), papa cruda puca-shungo (<i>Solanum tuberosum spp.</i>) y zanahoria blanca cruda (<i>Arracacha xanthorrhiza Bancroft</i>)	43
Figura 27. Secado de las muestras para determinación de humedad	58
Figura 28. Extractor Soxhlet para grasa.....	58
Figura 29. Extractor de grasa. (Método Golfish)	58
Figura 30. Pelado y cortado de Zanahoria Blanca	62
Figura 31. Colocado de las rodajas en las bandejas después de la inmersión en metabisulfito 0,01%	62
Figura 32. Secado de las rodajas de Zanahoria Blanca.....	62
Figura 33. Molienda de las rodajas secas de Zanahoria Blanca.....	62
Figura 34. Lavado de papa Puca-shungo	63
Figura 35. Cortado de rodajas de papa e inmersión en agua.....	63
Figura 36. Secado de las rodajas de papa.....	63
Figura 37. Molido de las rodajas secas de papa	63
Figura 38. Curva estándar de Glucosa	65
Figura 39. Curva de calibración de hierro a partir de patrones acuosos medido a 248,35 nm.....	76

Figura 40. Curva de calibración de magnesio a partir de patrones acuosos medido a 285,24 nm.....	77
Figura 41. Curva de calibración de calcio a partir de patrones acuosos medido a 422,72 nm.....	77
Figura 42. Curva estándar de maltosa	84
Figura 43. Curva de progreso de la reacción de hidrólisis de almidón soluble catalizada por amilogucosidasa (<i>Aspergillus niger</i>) con dilución 1:500.	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de humedad de la materia prima.....	35
Tabla 2. Porcentaje de rendimiento en la obtención de harinas	36
Tabla 3. Contenido de grasa de las harinas de amaranto (<i>Amaranthus caudatus L.</i>) y chía (<i>Salvia hispánica L.</i>).....	37
Tabla 4. Contenido de azúcares reductores, totales y almidón en 4 tipos de harinas .	39
Tabla 5. Concentración de hierro, calcio y magnesio para los 4 tipos de harinas	42
Tabla 6. Datos para el cálculo de humedad de la materia prima.....	56
Tabla 7. Datos para la cuantificación de grasa de las harinas de amaranto (<i>Amaranthus caudatus L.</i>) y chía (<i>Salvia hispánica L.</i>) (Método Soxhlet)	56
Tabla 8. Datos para la cuantificación de grasa de las harinas de amaranto (<i>Amaranthus caudatus L.</i>) y chía (<i>Salvia hispánica L.</i>) (Método Goldfish).....	56
Tabla 9. Rendimiento de la obtención de harinas y almidón desperdiciado	60
Tabla 10. Datos de absorbancia para la glucosa	65
Tabla 11. Datos obtenidos en la extracción de azúcares	67
Tabla 12. Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores.....	69
Tabla 13. Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores luego de la hidrólisis de las muestras con invertasa	69
Tabla 14. Datos obtenidos en el análisis de azúcares totales	70
Tabla 15. Datos obtenidos en el análisis de almidón	71
Tabla 16. Condiciones instrumentales para la lectura de hierro, calcio y magnesio en el equipo de absorción atómica	73
Tabla 17. Datos obtenidos de pesos (W) de crisoles vacíos (Wc) y muestras para la determinación de minerales en harinas de Chía y Amaranto.....	74
Tabla 18. Datos obtenidos de pesos (W) de crisoles vacíos (Wc) y muestras para la determinación de minerales en harinas de Zanahoria Blanca y Papa Puca-shungo...	75
Tabla 19. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Chía (<i>Salvia Hispanica L.</i>).....	78
Tabla 20. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Amaranto (<i>Amaranthus caudatus L.</i>).....	79

Tabla 21. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de papa Puca-shungo (<i>Solanum tuberosum</i>)	80
Tabla 22. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Zanahoria blanca (<i>Arracacha xanthorrhiza Bancroft</i> .)	81
Tabla 23. Datos para la elaboración de la curva de la Maltosa.....	84
Tabla 24. Datos de absorbancia obtenidos para la hidrólisis de almidón soluble catalizada por amiloglucosidasa durante 5 min	86

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el contenido de azúcares reductores, totales y almidón en harinas de Amaranto, Chía, Papa puca shungo y Zanahoria blanca por el método del ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS). Los resultados mostraron que la harina de zanahoria blanca contiene un alto porcentaje de azúcares reductores (3,68 %) y totales (20,98 %); mientras que la harina de papa Puca shungo demostró que tiene un mayor porcentaje de almidón (74,42 %), seguida de la harina de zanahoria blanca (69,16 %). Además se cuantificó el contenido de minerales por espectrofotometría de absorción atómica. Se analizó calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg), en las 4 harinas, mostrando la harina de chía el mayor contenido de los tres minerales de estudio con valores para Fe de 93,0 µg/g, Ca 4861,2 µg/g, Mg 4194,4 µg/g, resultados semejantes a los documentados en bibliografía.

Palabras claves: Azúcares reductores, Azúcares totales, Almidón, Minerales, Cultivos andinos, Chía.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the content of reducing sugars, total sugars and starch in flours of Amaranth, Chía, potato Puca shungo and White carrot flours by the method of 3,5 dinitic salicylic acid (DNS). The results showed that carrot flour contains a high percentage of reducing sugars (3.68 %) and total sugars (20.98 %); while the potato Puca shungo flour showed that it has a higher percentage of starch (74.42 %), followed by white carrot flour (69.16 %). The mineral content was quantified by atomic absorption spectrophotometry. Calcium (Ca), iron (Fe) and magnesium (Mg) were analyzed in the 4 flours; showing chia flour the highest content of the three study minerals with values for Fe of 93.0 $\mu\text{g} / \text{g}$, Ca 4861.2 $\mu\text{g} / \text{g}$, Mg (4194.4 $\mu\text{g} / \text{g}$), results similar to those documented in bibliography.

Keywords: Reducing sugars, Total sugars, Starch, Minerals, Andean crops, Chía.

INTRODUCCIÓN

Chía (*Salvia Hispanica L.*)

Pertenece a la familia de las *Lamiaceae*, es una planta herbácea anual, originaria de las áreas montañosas de México, sus semillas son de color pardo grisáceo con manchas de color café oscuro (Figura 1), miden alrededor de 1,5-2,0 mm de longitud (Di Sapiro et al., 2012).



Figura 1. Planta de Chía (a); Semillas de chía (b)

Fuente: (Di Sarpio et al., 2008)

Las semillas de chía tienen un alto contenido de ácidos grasos omega-3 incluso después de ser prensadas para generar aceite y su empleo como harina. Contienen una buena cantidad de compuestos con una alta actividad antioxidante principalmente flavonoides, proteína 23 %, lisina un aminoácido esencial que es limitante en los cereales, además no posee gluten. La chía se destaca por poseer una cantidad importante de minerales 714 mg/100 g de calcio (Ca) en semillas enteras y 1180 mg en harinas parcialmente desengrasadas, 16 mg/100g de hierro, 390 mg/100 g de magnesio, 700 mg/100g de potasio y 1057 mg/100 g de fósforo (Di Sarpio et al., 2008).

Raíces, granos y tubérculos andinos (RTAs)

Son parte de la herencia de pueblos autóctonos. Las RTAs se han cultivado durante siglos en la zona andina del Ecuador, ya que esta región cuenta con las condiciones óptimas que han evitado que estos cultivos desaparezcan (Barrera, Tapia y Monteros, 2004), la dieta en esta región es a base de vegetales, principalmente de tubérculos

ricos en carbohidratos (papa), granos ricos en lisina y metionina (amaranto) (Ayala, 2004).

Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*)

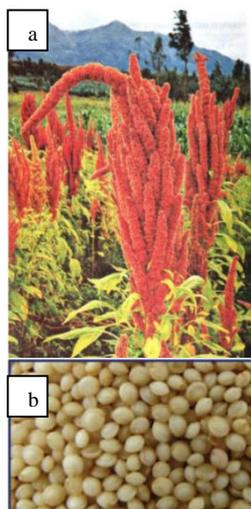


Figura 2. Planta de amaranto (a); Semilla de amaranto (b)
Fuente: (Peralta, 2010)

Este cultivo hace tres décadas no tenía mayor trascendencia en los sistemas de producción y consumo en el país, después de la conquista española fue marginado ya que se le consideraba como alimento de “indios” o “cholos” que tenía mal sabor y de mala apariencia, eran considerados “malas hierbas” de los cultivos del momento como el trigo, avena y cebada. Las semillas de amaranto (Figura 2) son de forma redonda, ovoide y de color blanco o amarillento, mide entre 0,7 y 1,4 mm de longitud (Peralta, 2010). Se lo considera como un alimento estratégico para la soberanía alimentaria de los pueblos andinos principalmente (Peralta et al., 2012).

La variedad INIAP Alegría fue obtenida por selección de la variedad “Alan García” introducida del Cusco, Perú y seleccionada en la Estación Experimental Santa Catalina entre 1987 y 1988 (Peralta, 2012).

Ha logrado captar un creciente interés debido a su potencial como alimento y su calidad nutritiva (Jacobsen & Sherwood, 2002). Presenta un contenido de proteínas entre 15 y 18 %, 5 a 9 % de fibra, de 4 a 7 % de grasa, 60 a 62 % de carbohidratos y minerales como calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro y zinc (Huaraca, 2011).

El amaranto es muy parecido a la quinua en su valor nutritivo, tiene la ventaja de no contener saponinas y por esto no requiere un proceso de desaponificación no representando un riesgo para la salud del consumidor ni para el medio ambiente (Suquilanda, 2007).

Papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum spp.*)



Figura 3. Papa Puca-shungo
Fuente: (Monteros et al., 2008)

La variedad INIAP-Puca Shungo es una papa nativa de la región andina, tiene la particularidad de presentar pulpa de color rojo-morado, indicando la presencia de antocianinas

(Figura 3), que además de darle un color vistoso a la pulpa actúan como antioxidantes naturales que ayudan a combatir enfermedades degenerativas, tiene un contenido de Calcio de 30-60 mg/100 g, Magnesio entre 80-130 mg/100 g y Hierro de 0,061- 0,086 mg/g en base seca (Monteros et al., 2008). La variedad nativa con pulpa de color debe cumplir con los parámetros de calidad con un contenido de azúcares reductores menor a (250 mg/100 g) (Nieto, 2012).

Las papas nativas, especialmente aquellas que tienen “pulpas pigmentadas” corren el peligro de desaparecer y de ser remplazadas por variedades mejoradas de mayor rendimiento, ya que no tienen oportunidades en los mercados de las grandes ciudades (Monteros, Yumisaca, Andrade-Piedra, & Reinoso, 2010).

Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza* Bancroft).



Figura 4. Zanahoria Blanca
Fuente: (Suquilanda, 2007)

Comunmente conocida como arracacha, es una raíz andina (Figura. 4), se la puede consumir como la papa y se procesa como chips o galletas. En el Ecuador se ha identificado tres formas hortícolas principales, la diferencia radica en el color de la superficie de las raíces siendo estas: blanca, amarilla y morada. Esta planta debe ser considerada como un alimento esencialmente energético pues en su composición química se destacan los carbohidratos (almidón + azúcares totales) con un contenido de 24,90 g/100 g (Suquilanda, 2007). Además, es fuente de vitaminas y minerales como Hierro (1,2 mg) y Calcio (17 mg) (Ayala, 2004).

Glúcidos

El término glúcido viene de la voz griega glykys que significa dulce. Los glúcidos son moléculas orgánicas, que contienen carbono, oxígeno e hidrógeno. Sin embargo, en algunos derivados se encuentra además fósforo, azufre o nitrógeno. Constituyen la principal y más abundante fuente de energía para los seres vivos, son sintetizados por los tejidos vegetales durante la fotosíntesis (Paz de Andrade, 2014).

Se pueden distinguir dos grandes grupos de glúcidos: el primero comprende las sustancias utilizables por el hombre y los monogástricos que se denominan **glúcidos digestibles**; el segundo engloba todas las moléculas glucídicas indigestibles para el hombre pero utilizables por los rumiantes (Adrian et al., 2000).

Glúcidos digestibles

Los monosacáridos o azúcares simples (Figura. 5) pertenecen a los glúcidos digestibles, los cuales son además azúcares reductores. El principal representante de este grupo es la glucosa que constituye un nutriente fundamental para los seres vivos, el organismo puede asimilarla para obtener energía o realizar la función de reserva como glucógeno en el caso de los animales y como almidón en las plantas (J. Álvarez, 2009).

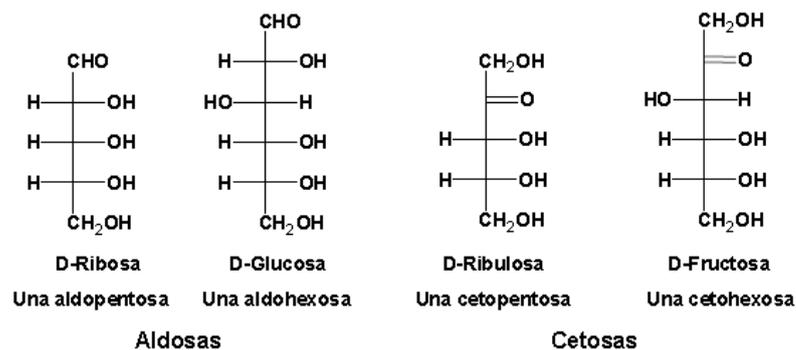


Figura 5. Estructura química de los azúcares reductores

Fuente: (J. Álvarez, 2009)

La cuantificación de los azúcares puede abordarse de diversas formas. Los azúcares son mayoritariamente, reductores, pero igualmente moléculas hidroxiladas con una configuración espacial específica que nos permite identificarlos y cuantificarlos en base a reacciones de óxido – reducción o a sus propiedades cromatográficas o por su acción sobre la luz polarizada (Adrian et al., 2000).

Almidón

Los monosacáridos al asociarse forman oligosacáridos y polisacáridos como por ejemplo el almidón. Este polisacárido es una mezcla de dos componentes

moleculares básicos la amilosa (Figura 6) y la amilopectina (Figura 7) que son idénticos en sus unidades básicas constitutivas (glucosa) pero difieren en el acoplamiento; el primero es producto de la condensación de glucosas por enlaces glucosídicos α (1,4) y contiene largas cadenas lineales con 200-2500 unidades, mientras que la amilopectina tiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol cuyas ramas están unidas por enlaces α (1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa (Badui, 2014). Estas variaciones en los enlaces afectan su funcionalidad en las aplicaciones alimentarias (NIBA, 2005).

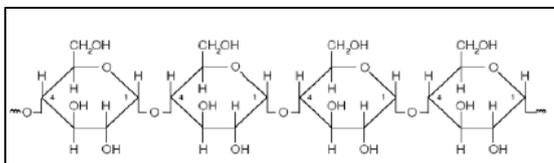


Figura 6. Estructura química de la amilosa

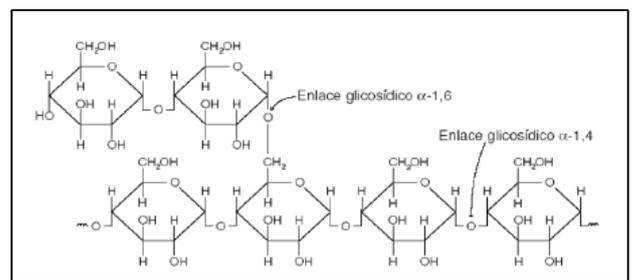


Figura 7. Estructura química de amilopectina

Fuente: (Meneses, Corrales, y Valencia, 2007)

La digestión del almidón se efectúa por acción de enzimas denominadas amilasas, presentes en la saliva y en las secreciones del páncreas, su función es fragmentar el polisacárido en moléculas más pequeñas para facilitar su absorción en el intestino delgado. La cuantificación del almidón se puede realizar por hidrólisis ácida o por hidrólisis enzimática. La primera es inespecífica y libera glucosa de polisacáridos estructurales que pueden estar presentes junto con el almidón en tanto que la hidrólisis enzimática es específica y permite determinar solo el almidón.

El método del Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para cuantificar azúcares reductores

En investigaciones de carbohidratos es común medir el contenido de azúcares reductores y totales debido a la importancia que tiene disponer de esta información. Existen varios métodos para cuantificar azúcares reductores, sin embargo, el método que utiliza DNS es una técnica colorimétrica simple que se basa en la reacción del ácido 3,5 dinitrosalicílico con los azúcares reductores presentes en la muestra; por tanto la sacarosa un disacárido no reductor, no reacciona directamente con este

compuesto sino la glucosa y fructosa que se liberan tras la hidrólisis de la sacarosa en medio ácido o por la acción de la invertasa (Adrian, Potus, Poiffait, & Dauvillier, 2000) generando un producto coloreado medible espectrofotométricamente (Figura 10) (Miller, 1959).

Tras la hidrólisis de la sacarosa catalizada por la invertasa se obtiene los monosacáridos D-Fructosa y D-glucosa (Figura 8). La D-Fructosa producida se isomeriza rápidamente a D-glucosa (Figura 9) que, junto con la otra mol de glucosa producida por la reacción enzimática, reduce al 3,5-dinitrosalicilato de color amarillo brillante a soluciones de color naranja oscuro de 3-amino-5-nitrosalicilato (Figura 10) (Timerman, 2012).

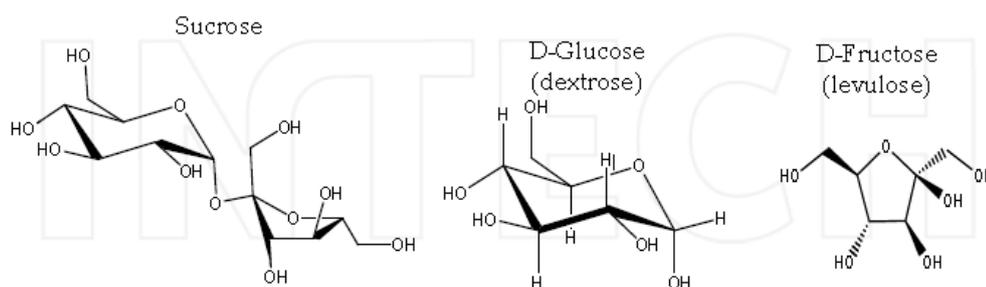


Figura 8. Estructura de la sacarosa y la conformación cíclica de cada monosacárido producido.
Fuente: (Timerman, 2012)

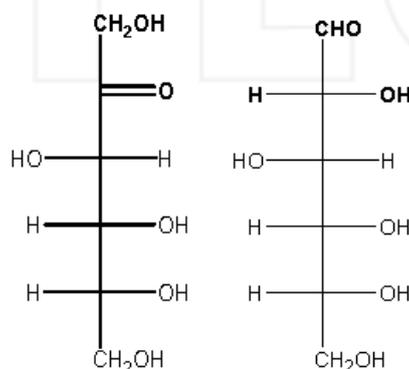
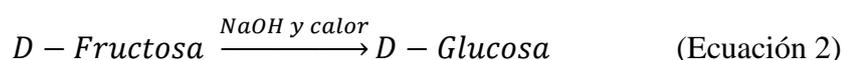


Figura 9. Proyección de Fisher de la conformación de cadena abierta de los reactivos y productos de la isomerización catalizada por base, de D-fructosa (una ceto-hexosa no reductora) a D-glucosa (una aldo-hexosa reductora).

Fuente: (Timerman, 2012)

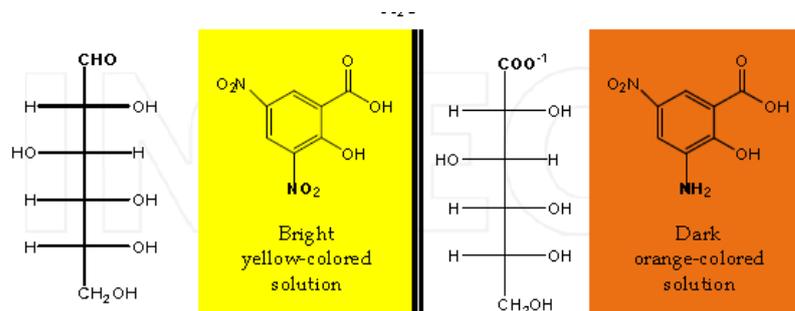
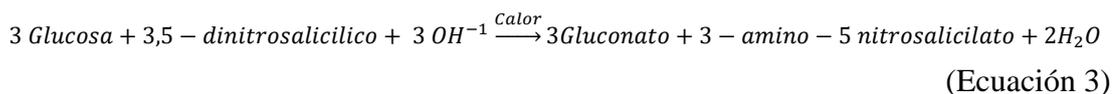


Figura. 10 Estructura de los reactivos y productos de la reducción del ácido 3,5 dinitrosalicílico de color amarillo a una solución de 3-amino-5 nitrosalicilato de color naranja oscuro, debido a la oxidación de la glucosa a gluconato.

Fuente: (Timerman, 2012)

Minerales

Regularmente se encuentran 36 elementos y 21 de estos son esenciales para el correcto funcionamiento del organismo, se los puede encontrar en los alimentos (Badui, 1993), el organismo requiere de estos micronutrientes en cantidades muy pequeñas para facilitar las reacciones químicas que ocurren en el mismo, no le proporcionan energía al cuerpo (FAO, 2015).

Minerales importantes

Calcio

Es el componente principal del esqueleto, además es importante en funciones metabólicas como la muscular, el estímulo nervioso, actividades enzimáticas y hormonales y también en el transporte del oxígeno, los niveles recomendados de consumo diario son de 400 a 500 mg en adultos, de 400 a 700 mg en niños y en mujeres embarazadas y madres lactantes de 800 a 1000 mg. Los productos lácteos son una buena fuente de calcio (FAO, 2002).

Hierro

La principal función del hierro es la de transportar el oxígeno a varios sitios del cuerpo, la carencia del mismo puede provocar anemia, se lo puede encontrar en pescados, huevos, carne, legumbres, cereales y hortalizas de hoja verde, las necesidades dietéticas normales son de 10 mg por día aunque es recomendado que las mujeres en edades fértiles consuman diariamente 18 mg ya que en la menstruación se calcula una pérdida de 1 mg diario durante un año (FAO, 2002).

Magnesio

Es un componente esencial presente en los huesos y en la mayor parte de los tejidos, se lo puede encontrar en harina de carne y hueso, salvado de arroz, semillas de girasol (1,0-0,75 %), salvado de trigo, harina de camarón (FAO, 2002).

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS)

Esta técnica es la más utilizada para determinar minerales como Calcio, Hierro y Magnesio en muestras debido a su alta selectividad, sensibilidad y a la posibilidad de ser ajustada al análisis directo con una mínima preparación de la muestra (Butcher & Sneddon, 1998). La técnica se basa en el principio de Lambert-Beer el cual establece que la absorción (A) de una solución es directamente proporcional a su longitud de trayecto (l) y a su concentración (C) cuando la longitud de onda de la luz de incidencia permanece fija. Esto se resume en la ecuación $A = \epsilon l C$, donde (ϵ) es la capacidad de absorción molar (Tomado del Manual de Elemental Spectroscopy 2014).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN

Determinación del contenido de azúcares reductores, totales, almidón y de los elementos minerales Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg) en harinas de Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), Chía (*Salvia Hispanica L.*), Papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum*), y Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*)

1.2 JUSTIFICACIÓN

Los cultivos andinos tanto de pseudo-cereales (amaranto), tubérculos (papa Puca shungo) y raíces (zanahoria blanca) tienen una gran importancia económica, ecológica, social, funcional y aportan un buen valor nutritivo (Carrasco y Soto, 2010), debido a que son una buena fuente de proteínas, carbohidratos y minerales (Jacobsen y Sherwood, 2002).

La moderna investigación de la chía se basa en su gran aporte de ácidos grasos esenciales y que son considerados como excelentes integradores alimentarios. Su riqueza nutricional la convierte en un ingrediente ideal para adicionar a productos de panificación y a un sinnúmero de preparaciones culinarias y bebidas (Di Sarpio et al., 2008).

Porr (2012) dice que el componente principal de las semillas de amaranto es el almidón que representa entre el 50 y 60% de su peso, el diámetro del gránulo del almidón oscila entre 1 y 3 micrones, debido a esta reducida dimensión es muy fácil de digerir, 2,4 a 5,0 veces más rápido que el almidón de maíz, por lo que al ser consumidos se ponen rápidamente a disposición de nuestro organismo.

En el caso de papas destinadas para la fritura en hojuelas la industria requiere de variedades con bajos contenidos de azúcares reductores que sean inferiores al 0,1 % del peso fresco, valores mayores al 0,33 % son inaceptables (J. Moreno, 2000). El contenido de azúcares reductores en tubérculos influye en la calidad de las hojuelas ya que está correlacionada con el grado de oscurecimiento no enzimático que se desarrolla en el calentamiento (Pritchard y Adam, 1994).

El contenido de azúcares reductores está fuertemente influenciado por la variedad, altitud y temperatura; a mayor altitud las temperaturas atmosféricas son menores, por lo tanto, a mayor altitud se incrementa el contenido de azúcares reductores afectando así la calidad de la fritura de los tubérculos (Manrique, 2009).

El almidón desempeña diversas funciones en los sistemas alimentarios. Se lo puede utilizar como soporte en diversos productos, como modificador de textura, espesante y como materia prima para la producción de otros ingredientes y productos alimenticios valiosos. Fisiológicamente es una fuente de energía (NIBA, 2005).

Los minerales son importantes para el correcto funcionamiento de nuestro organismo. Vera, (2016) considera que las enfermedades por déficit de micronutrientes (vitaminas y minerales) afecta especialmente a grupos vulnerables como embarazadas, niños, adultos mayores y lactantes. H. Carrasco y Tejada, (2008) dicen que un requisito para prevenir la malnutrición en una comunidad es la disponibilidad de alimentos que puedan satisfacer las necesidades nutricionales. El problema radica en el bajo aporte de los alimentos consumidos, por estos motivos y ya que pocas son las investigaciones en esta área, el objetivo del presente trabajo de investigación es aplicar una metodología económica, rápida y reproducible para determinar azúcares reductores, azúcares totales, almidón y micronutrientes en harinas de Amaranto, Chía, Zanahoria Blanca y Papa Puca shungo, ya que estos son considerados alimentos con una cantidad importante de nutrientes, además de contribuir con datos de composición química y contenido de minerales debido a que estos son escasos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Determinar el contenido de azúcares reductores, totales, almidón y de los elementos minerales Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg) en harinas de Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), Chía (*Salvia Hispanica L.*), Papa Puca Shungo (*Solanum tuberosum*), y Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*).

1.3.2 Objetivos Específicos

- Adaptar una metodología para la determinación del contenido de azúcares reductores, azúcares totales y almidón.
- Determinar el porcentaje de azúcares reductores, azúcares totales y almidón en harinas de Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), Chía (*Salvia hispánica L.*), Papa Puca Shungo (*Solanum tuberosum spp*), y Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*).
- Cuantificar el contenido de los elementos minerales Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg) de las 4 matrices.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Una política alimentaria nacional debe ser parte de una estrategia general de nutrición para todos los hogares con el único objetivo de lograr la seguridad alimentaria, el acceso de todas las personas a los alimentos necesarios para llevar una vida saludable y activa (FAO, 2002).

En el Ecuador existen alrededor de 400 variedades de papas nativas, se cosechan en la región andina especialmente en Ambato-Tungurahua, Saquisilí-Cotopaxi y Guaranda-Bolívar, estas papas además de ser ricas en nutrientes poseen antioxidantes que ayudan a la prevención de enfermedades cardiovasculares (Moreno et al., 2015). El Programa Nacional de Raíces y Tubérculos Andinos del INIAP (PNRT-papa) ha venido realizando cruzamientos desde el 2005, disponen de 4 clones de las poblaciones 2005 y 2007 y 1 variedad nativa con pulpa de color que cumple con los parámetros de calidad contenido de materia seca mayor a 22 % y contenido de azúcares reductores menor a (250 mg/100 g) (Nieto, 2012).

Se han realizado estudios de caracterización del amaranto por ejemplo Pérez y Luzuriaga (2010) caracterizaron harina de las semillas de amaranto obtenida por molienda determinando, proteína (12,49 %), grasa (4,10 %), humedad (10 %), fibra (5,18 %), azúcares reductores (1,03 %), azúcares totales (61,69 %) y almidón (58,97 %). Bressani y Rodas (2007) caracterizaron algunas variedades de granos crudos de amaranto, entre sus estudios está la variedad Alegría-disciplinada con 16,2 % de proteína, carbohidratos 64,7 %, grasa 6,4 % y humedad 12 %.

En un estudio realizado por Vázquez, Rosado, Chel y Betancur (2010) la composición proximal para harina integral de chía fue de 211 g/kg (base seca) de

proteína, grasa 259,8 g/kg (base seca), para harina desengrasada fue de 322,4 g/kg y grasa 4,5 g/kg en base seca.

Espín, Villacrés y Brito (2004) realizaron una caracterización fisicoquímica, nutricional y funcional de Raíces y Tubérculos Andinos (oca, melloco, mashua, zanahoria blanca, miso, jícama y achira), teniendo para la zanahoria blanca un contenido de proteína de 2,95-9,04 %, almidón 48,55-85,58 %, azúcares reductores 1,73-3,48 % y azúcares totales 3,82-15,22 %.

Un adulto requiere de 200 g de carbohidratos al día para facilitar la función cerebral y muscular. El almidón es la principal fuente de calorías y energía dietética en la mayoría de los sistemas alimentarios humanos, las raíces y tubérculos son una fuente importante de almidón en la dieta (NIBA, 2005).

Para adecuarse al análisis de diferentes materiales el método del DNS ha sufrido varias modificaciones a través de los años, en un estudio realizado por Rivers et al. (1984) sobre las limitaciones del ensayo DNS concluyen que este método puede usarse como un método analítico y preciso para la evaluación de azúcares reductores tanto en soluciones puras como en sobrenadantes cuando el único resultado es la glucosa. Debido a que es un método espectrofotométrico es de alta sensibilidad y no se recomienda utilizarlo en muestras intensamente coloreadas como mieles y caldos fermentados (Otero et al., 1986).

Álvarez (2016) realizó un estudio para determinar sodio, potasio, hierro, calcio y zinc en arveja, lenteja y harina de haba por el método de espectrofotometría de absorción atómica, obteniendo resultados muy confiables que después fueron comparados con la Tabla de Componentes de los Alimentos ecuatorianos realizada en 1965.

2.2 HIPÓTESIS

Hipótesis Nula

Ho1: La metodología utilizada para la determinación no influye en el contenido de azúcares reductores, azúcares totales y almidón

Ho2: El porcentaje de azúcares reductores, azúcares totales y almidón no cambia en las diferentes matrices (4)

Ho3: El contenido de los minerales Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) no varía en las diferentes matrices (4)

Hipótesis Alternativa

Ha1: La metodología utilizada para la determinación influye en el contenido de azúcares reductores, azúcares totales y almidón.

Ha2: El porcentaje de azúcares reductores, azúcares totales y almidón cambia en las diferentes matrices (4).

Ha3: El contenido de los minerales Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) varía en las harinas a analizar (4).

2.3 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES

2.3.1 Variables independientes

H1: Metodología

H2: Diferentes matrices (amaranto, chía, papa puca-shungo, zanahoria blanca)

H3: Harinas a analizar (amaranto, chía, papa puca-shungo, zanahoria blanca)

2.3.2 Variables dependientes

H1: Contenido de azúcares reductores, azúcares totales y almidón

H2: Porcentaje de azúcares reductores, azúcares totales y almidón.

H3: Contenido de minerales Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

Las pruebas experimentales se realizaron en el laboratorio de Alimentos Funcionales BIO-PROPEPTI y en el laboratorio de Análisis Instrumental (UODIDE-ICIA, Proyecto de Canje de Deuda) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materia Prima

Para la ejecución de este trabajo de investigación se consideraron 4 matrices: chía (*Salvia Hispanica L.*), amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum*), y zanahoria blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*), proporcionadas por el proyecto REDU.

3.1.2 Materiales de laboratorio

- Balones de aforo de 5, 10, 25, y 50 mL
- Columna de desalado PD 10 con Sephadex G-25 (GE healthcare Life Sciences)
- Crisoles de porcelana de 30 mL
- Dedales de extracción AQUALAB (Diámetro interno 33 mm, longitud externa 80 mm)
- Espátulas
- Filtros de 0,45 µm AGILENT CAPTIVA, ECONO FILTER
- Goterros, mangueras, ligas, lienzo
- Gradilla metálica
- Guantes de látex
- Jeringas de 1 mL
- Lavacara

- Magnetos
- Matraces de 25 mL
- Mortero
- Olla de aluminio
- Papel aluminio, papel filtro, papel parafilm
- Pipetas, micro pipetas de volumen fijo y volumen variable
- Probetas (10 mL, 100 mL)
- Rotuladores, marcadores
- Termómetro de -10 a 110 °C
- Tiras de pH MACHEREY-NAGEL
- Toallas absorbentes
- Tubos bacteriológicos
- Tubos de centrifuga de 15 y 50 mL
- Tubos eppendorf de 2 mL
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación (50, 250 y 500 mL)

3.1.3 Reactivos

- Acetato de sodio
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico 98 % ACROS ORGANICS
- Ácido acético glacial 100 %, MERCK
- Ácido clorhídrico fumante 37% p/p, MERCK
- Ácido nítrico concentrado grado analítico 68-70%, FISHER CHEMICAL
- Agua MilliQ
- Almidón Soluble, MALLINCKRODT
- Cloruro de lantano al 1 %
- Enzimas: α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* (Termamyl 120 L) y Amiloglucosidasa 300 L de *Aspergillus niger* de Novo, Nordisk).
- Estándar de Calcio (PG INSTRUMENTS AA calcium standard solution 1000 mg de Ca/L en HNO₃ 0,5 M).
- Estándar de Hierro (PG INSTRUMENTS IRON AAS standard solution 1000 ppm de Fe en HNO₃ 0,5M).

- Estándar de Magnesio (MERCK MAGNESIUM standard solution 1000 mg de Mg/L en HNO₃ 0,5M).
- Etanol al 95 %, MERCK
- Gas: Aire/Acetileno AA 2,5 Linde al 99,5%
- Glucosa grado analítico
- Hexano grado analítico, MERCK
- Hidróxido de Sodio, MERCK
- Maltosa grado analítico, BDH REAGENT
- Gas: Aire/Óxido nitroso UAP grado 5,0
- Tartrato de Sodio y Potasio, MERCK

3.1.4 Equipos

- Balanza analítica MODEL VWR-224AC
- Balanza infrarroja para humedad METTLER TOLEDO-HX204
- Cámara de extracción de gases y humos tóxicos NOVATECH-CE120BA
- Centrífuga, EPPENDORF MODEL 5702
- Congelador MABE
- Compresor de aire
- Equipo de absorción atómica con horno de grafito y lámparas para detección de minerales (Analytical Cookbook PG Instruments Espectrómetro de Absorción Atómica AA500)
- Equipo Soxhlet
- Espectrofotómetro GENESYS TM, 20 THERMO SCIENTIFIC
- Estufa VWR con regulación de temperatura
- Extractor de grasas con recuperación VELP SCIENTIFICA
- Microcentrífuga LABNET MODEL C2400-b
- Microincubador LABNET
- Molino IKA WERKE M20
- Mufla NABER THERM 30-3000 °C
- pH-metro METTLER TOLEDO
- Plancha de calentamiento con agitación magnética VWR
- Refrigerador INDURAMA

- Sistema de ultrafiltración THERMO SCIENTIFIC
- Secador de bandejas con corriente convectiva de aire caliente, CD160 GANDER
- Vórtex VWR

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Determinación de humedad

La humedad de las semillas de amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), semillas de chía (*Salvia hispánica L.*), papa cruda puca-shungo (*Solanum tuberosum spp.*) y de la parte comestible de zanahoria blanca cruda (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*) se determinó de acuerdo al Método Oficial de Análisis de la Organización Americana de Químicos Analíticos (AOAC, 2012), este análisis se llevó a cabo en el laboratorio de Alimentos Funcionales BIO-PROPEPTI de la facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

3.2.2 Obtención de harinas de las 4 matrices

3.2.2.1 Proceso para obtener harina de chía (*Salvia hispánica L.*)

Extracción del mucílago de las semillas de Chía

Las semillas de Chía se hidrataron con agua destilada en relación 1:10 (p/v) por 4 horas (Figura 11), se extrajo el mucílago mediante prensado con la ayuda de un lienzo (Figura 12) (Cárdenas, 2016).



Figura 11. Hidratación de chía usando una relación semilla: agua 1:10 (p/v)



Figura 12. Extracción del mucílago de chía

Harina de Chía

Una vez extraído el mucílago, las semillas limpias se secaron en una estufa a 50 °C durante 24 horas con el fin de eliminar la humedad, luego se trituraron en un molino de cuchillas hasta obtener un polvo muy fino (Figura 13) (Cárdenas, 2016), el cual fue almacenado en refrigeración en fundas plásticas, debidamente etiquetadas y selladas para protegerlo de la humedad, para su posterior análisis.



Figura 13. Harina de Chía

3.2.2.2 Proceso para obtener harina de Amaranto (*Amaranthus caudatus L.*)

Se trituraron las semillas secas en un molino de cuchillas hasta obtener un polvo muy fino (Figura 14), la muestra fue almacenada en refrigeración en fundas plásticas, debidamente etiquetadas y selladas para protegerla de la humedad, para su posterior análisis.



Figura 14. Harina de Amaranto

3.2.2.3 Proceso de obtención de harina de Papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum spp.*)

Las papas fueron adquiridas en el Consorcio de Productores de Papa (CONPAPA) de la ciudad de Ambato y se procesaron como consta en el diagrama de flujo (Figura 15).

Para obtener el rendimiento, las papas fueron pesadas al inicio y al final del proceso, se retiró las impurezas y fueron cortadas con cáscara en hojuelas muy finas para facilitar el secado manteniéndolas en inmersión en agua para evitar el pardeamiento enzimático, luego se escurrió y se colocó en mallas metálicas para ser secadas (en un secador de bandejas con corriente convectiva de aire caliente GANDER) a 125 °F durante 24 horas. A continuación, se trituró en un molino manual (CORONA) para evitar pérdidas, se tamizó a través de una malla de mesh 90 (Figura 16) y finalmente se almacenó en refrigeración en fundas plásticas etiquetadas y bien selladas para protegerlo de la humedad para su posterior análisis.

El agua de inmersión se dejó en reposo por 24 horas en refrigeración para facilitar la precipitación del almidón, se pesó el almidón húmedo obtenido y se secó en una estufa a 40 °C por 24 horas, se trituró con la ayuda de un mortero y se pesó.

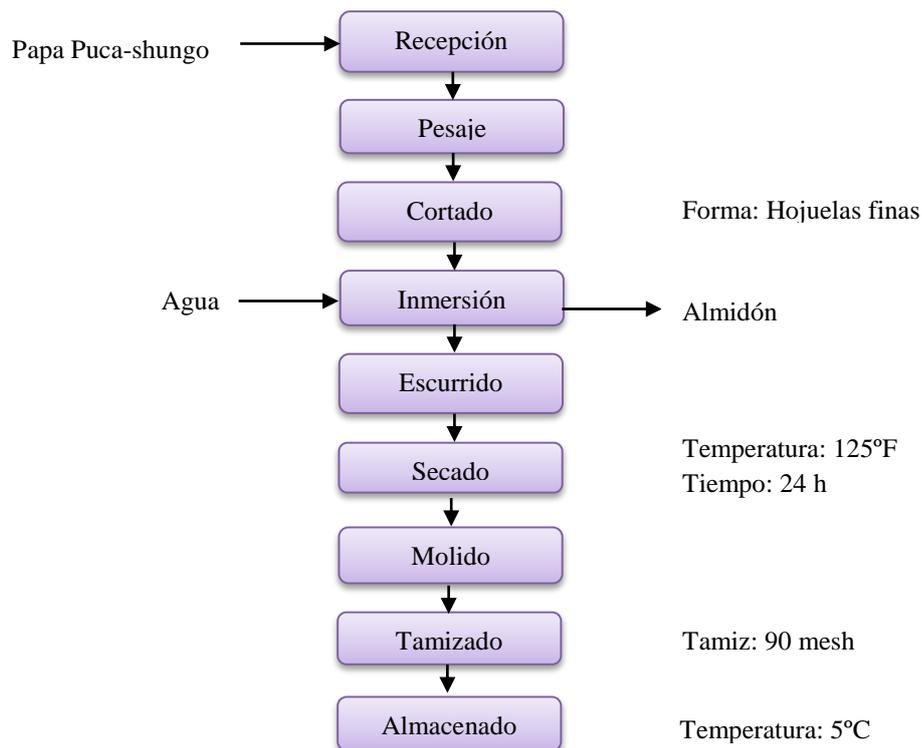


Figura 15. Diagrama de flujo de la obtención de harina de papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum* spp.)
 Elaborado por: Raquel Alcocer
 Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI



Figura 16. Harina de papa Puca-shungo pasada por un tamiz de 90 mesh

3.2.2.4 Proceso de obtención de harina de Zanahoria Blanca (Figura 17)

Las raíces de zanahoria blanca fueron adquiridas en el mercado central de la ciudad de Ambato.

La harina de zanahoria blanca se obtuvo de la parte comestible de la raíz (sin cáscara) como se describe a continuación. Primero se pesó la materia prima, se lavó con agua para retirar tierra e impurezas, se peló la cáscara cuidadosamente a fin de evitar desperdicio, se pesó nuevamente y se cortó en hojuelas muy delgadas para facilitar el secado, manteniéndolas en inmersión por 15 min en una solución de metabisulfito al 0,01% con el propósito de evitar el pardeamiento enzimático, luego se escurrió y se colocó en mallas metálicas para ser sometidas a secado (en un secador de bandejas con corriente convectiva de aire caliente GANDER) a 125 °F durante 24 horas, se trituro en un molino manual (CORONA) para evitar pérdidas, se tamizó en una malla de mesh 90 y finalmente se almacenó en refrigeración en fundas plásticas etiquetadas y bien selladas para protegerlo de la humedad hasta su posterior análisis.

El agua de inmersión se dejó en reposo por 24 horas en refrigeración para facilitar la precipitación del almidón, se pesó el almidón húmedo obtenido y se secó en una estufa a 40 °C por 24 horas, se trituro con la ayuda de un mortero y se pesó.

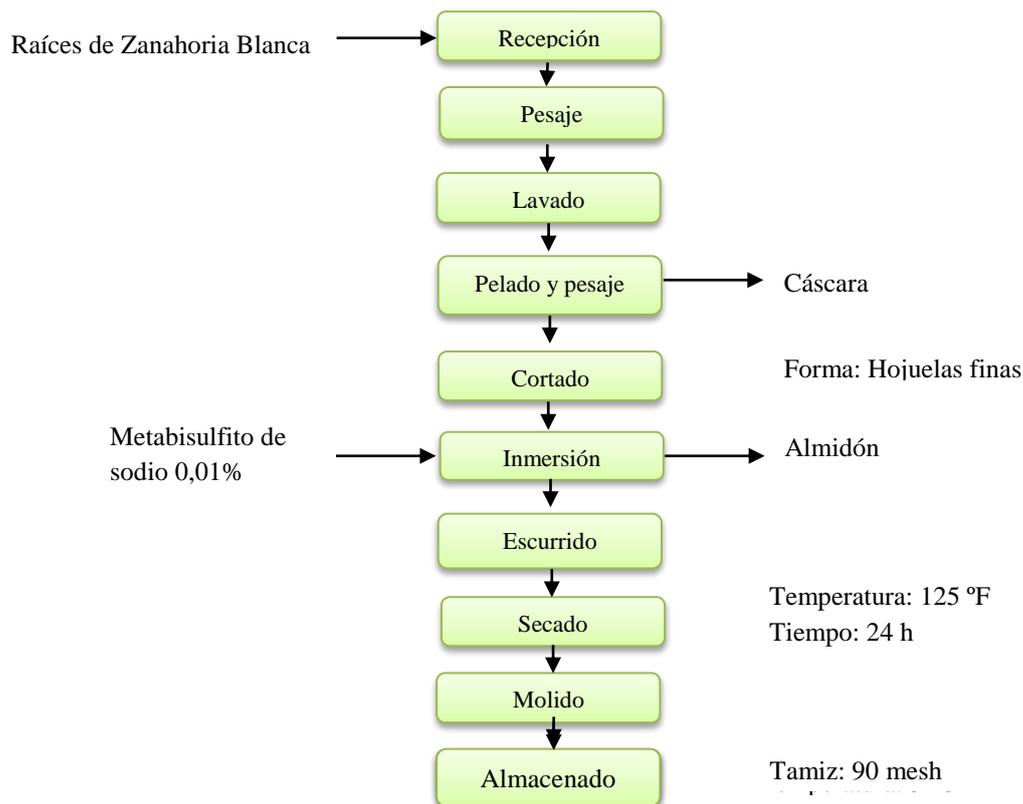


Figura 17. Diagrama de flujo de la obtención de harina de zanahoria blanca sin cáscara (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*)

Elaborado por: Raquel Alcocer
Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

3.2.2.5 Determinación de los rendimientos de las harinas

Para determinar el rendimiento en la extracción de las harinas se pesó la materia prima al inicio y al final del proceso la harina. Para el cálculo del porcentaje de rendimiento se aplicó la siguiente formula:

$$\%R = \frac{W_f}{W_0} * 100 \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Dónde:

$\%R$: rendimiento de harina

W_f : peso final de la harina

W_0 : peso inicial de la materia prima

3.2.3 Cuantificación de azúcares solubles en alcohol y almidón

Se determinó aplicando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) descrito por Miller (1959) con modificaciones que se describen a continuación en los extractos obtenidos con la mezcla etanol: agua 80:20. La concentración de azúcares de la muestra problema se determinó usando una curva estándar de glucosa cuya concentración varió en el intervalo de 0,1 – 2,0 mg.mL⁻¹.

3.2.3.1 Preparación de las muestras

a. Eliminación de la grasa

Para el análisis de azúcares reductores, totales y almidón, se extrajo la grasa de las muestras que contienen alto porcentaje de grasa (amaranto y chía) para evitar turbidez y así interferencias en las lecturas de absorbancias.

Las muestras a desengrasar deben tener una humedad máxima del 10 % por lo que se analizó el porcentaje de humedad de las muestras utilizando una balanza con infrarrojo (METTLER TOLEDO HX 204 MOISTURE ANALYZER). Para esto se colocó en el equipo un gramo de muestra y se utilizó las siguientes condiciones de trabajo: temperatura de la lámpara 150 °C y un criterio de secado de 1 mg/50 segundos.

Para el desengrasado de las muestras de harina de Amaranto y Chía se utilizó en primera instancia el método de extracción semicontinua con solvente: Método Soxhlet (AOAC, (2000) para grasa de cereales) por 6 horas y posteriormente el método de extracción continua con solvente: Método Goldfish descrito por (Min & Ellefson, 2010). El tiempo total de extracción fue de 6 horas, 4 de ellas en modalidad inmersión y las 2 últimas en modo lavado (Figura 18).

Para la extracción de grasa se utilizaron dedales de extracción AQUALAB tarados en una estufa a 70 °C por 24 horas los cuales se enfriaron en un desecador dentro de frascos plásticos con tapa (tarados a la misma temperatura) para evitar que los

dedales absorban humedad y su peso se determinó por diferencia. Se taró además a la misma temperatura y por igual tiempo, balones o vasos de extracción con núcleos de ebullición.

La cantidad de muestra utilizada fue de 2,5 g, pesada por diferencia, el solvente de extracción hexano y el tiempo empleado 6 h. Concluido el tiempo de extracción se enfrió el conjunto, se retiró el dedal con la muestra desengrasada el cual fue secado a 70 °C hasta eliminar todos los residuos de solvente y pesado por diferencia como se describió previamente para ser luego empleado en la extracción de azúcares. El solvente usado en la extracción se recuperó en el mismo equipo.



Figura 18. Colocación de las muestras en el equipo extractor de grasa con recuperación VELP SCIENTIFICA

b. Extracción de azúcares solubles en alcohol

La extracción de azúcares se realizó en el equipo extractor de grasas con recuperación (VELP SCIENTIFICA). Se utilizó para el proceso las muestras desengrasadas de chía o amaranto en los dedales utilizados para la extracción de grasa, o directamente 2,5 g de harina de papa o de zanahoria blanca pesadas por diferencia en dedales de extracción tarados como se describió previamente.

En los vasos de extracción se colocó aproximadamente 74 mL de etanol al 80 %. La extracción se realizó en modo lavado (washing) para evitar la gelatinización de la muestra, a una temperatura de calentamiento del plato de 140 °C por 4 horas. Terminado el proceso se enfrió el equipo, se extrajo el dedal con la muestra sobrante. Se recuperó el etanol por aproximadamente 1 a 2 horas a la misma temperatura, se

aforó la solución acuosa de azúcares resultante a un volumen conocido (10 o 25 mL) y se almacenó a -80 °C para luego ser utilizada en la cuantificación de azúcares reductores y totales (Figura 19). El alcohol impregnado en el residuo sólido se evaporó a 50 °C en una estufa por 48 horas, luego se trituroó con la ayuda de un mortero y se pesó la harina ya sin azúcares se almacenó a 5 °C en fundas de plástico bien selladas para luego ser utilizado en la cuantificación de almidón (Figura 20). La extracción se realizó con dos réplicas.



Figura 19. Muestras de azúcar aforadas a un volumen conocido, se trabajó con dos réplicas. De izquierda a derecha Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus* L.), Chía (*Salvia hispánica* L.), Papa puca-shungo (*Solanum tuberosum* spp.) y Zanahoria blanca (*Arracacha xanthorrhiza* Bancroft).



Figura 20. Harina sin azúcares después de la extracción y secado. De izquierda a derecha Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus* L.), chíá (*Salvia hispánica* L.), papa puca-shungo (*Solanum tuberosum* spp.) y zanahoria blanca (*Arracacha xanthorrhiza* Bancroft).

c. Preparación de las muestras de azúcar congeladas, previo el análisis

Previa la determinación de azúcares reductores, antes y después de la hidrólisis con invertasa, y de azúcares totales por hidrólisis ácida, las soluciones de azúcar fueron descongeladas a temperatura ambiente y una vez mezcladas, se extrajeron muestras de 1,8 mL que fueron colocadas en tubos eppendorf de 2 mL los cuales se

centrifugaron a 15600 g (13000 rpm) por 30 min en una microcentrífuga (EPPENDORF MODEL 5702).

3.2.3.2 Cuantificación de azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores se tomó una alícuota de 1 mL del centrifugado obtenido como se describe en 3.2.3.1 (c), se colocó en un tubo eppendorf de 2 mL previamente pesado y se registró el peso de la alícuota. Se adicionó 20 μ L de solución de Carrez I (solución de hexacianoferrato II de potasio al 15 % en agua) y 20 μ L de solución de Carrez II (solución de sulfato de zinc heptahidratado al 30% en agua), el pH se neutralizó con 100 μ L de NaOH 0,1 N vortizando después de cada adición, finalmente, se centrifugó a 15600 g por 15 min, se registró el peso de la solución (para determinar el factor de dilución) y se realizó la prueba de azúcares reductores con DNS como se describe en 3.2.3.6.

3.2.3.3 Cuantificación de azúcares reductores luego de la hidrólisis del extracto con invertasa

Para realizar esta prueba se pesó una alícuota de 1 mL del centrifugado obtenido como se describe en 3.2.3.1 (c) y se colocó en tubos eppendorf de 2 mL pesados, se añadió 140 μ L de extracto invertasa que contiene 4,14 UI-invertasa/mL obtenida como describe Timerman (2012) (ANEXO G) y se mezcló con agitación suave. Se dejó actuar la enzima por 6 horas luego de las cuales se adicionó 20 μ L de solución de Carrez I y 20 μ L de solución de Carrez II, el pH se neutralizó con 100 μ L de NaOH 0,1 M vortizando después de cada adición, se centrifugó a 15600 g por 15 min, se registró el peso de la solución y se realizó la prueba de azúcares reductores con DNS frente a blancos preparados de idéntica manera pero con la enzima inactivada térmicamente (mediante ebullición por 5 min y posterior centrifugación para eliminar los sólidos precipitados formados por la invertasa inactivada).

3.2.3.4 Cuantificación de azúcares totales

De la muestra centrifugada, preparada como describe el numeral 3.2.3.1 (c), se tomó una alícuota de 1 mL y se colocó en un tubo eppendorf de 2 mL pesado previamente, se adicionó 20 μ L de solución de Carrez I y 20 μ L de solución de Carrez II vortizando después de cada adición y se centrifugó por 15 min en la microcentrífuga. Se registró el peso de esta mezcla. A continuación, se tomó 400 μ L del sobrenadante, se colocó en otro tubo eppendorf de 2,0 mL previamente pesado y se registró el peso. Seguidamente, se añadió 40 μ L de HCl concentrado y se incubó a 70 °C por 30 min a 450 rpm en un micro-incubador (LABNET). Posteriormente, se neutralizó el pH, se aforó a 2 mL (registrando el peso final de la solución), se centrifugó por 15 min y se determinó el contenido de azúcares reductores con DNS mezclando 200 μ L de muestra con 200 μ L de solución de DNS como se describe en 3.2.3.6. El blanco se preparó con 200 μ L agua destilada + 200 μ L de DNS.

3.2.3.5 Cuantificación del Almidón

La cuantificación del almidón se realizó de acuerdo al método descrito por (Englyst, Kingman, & Cummings, 1992) con algunas modificaciones. Se pesaron 50 mg de las harinas sin azúcares en tubos falcon de centrífuga de 15 mL, se añadió 1 mL de agua destilada y se agitó la suspensión con un magneto pequeño colocado en cada tubo; simultáneamente se preparó un blanco con 1 mL de agua destilada (y un magneto). Se colocó en los tubos incluyendo el blanco 40 μ L de α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* que contiene 1,3 UI-alfa amilasa/mL (ANEXO G) y se incubó por 30 min en un baño de agua a ebullición, manteniendo las muestras en agitación (a 400 rpm) con la ayuda de una plancha eléctrica con agitación VWR (Figura 21).

Transcurrido el tiempo de incubación, se añadió a cada tubo 2 mL de tampón acetato de sodio 0,1 M de pH 4,5 y se reguló el pH de las muestras a 4,5. Se añadió 100 μ L de la enzima Amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* diluida con tampón acetato en una relación de 1:10 v/v que contiene 18,68 UI-GA/mL (ANEXO G) y se deja en agitación a 50 °C máximo en una plancha de calentamiento con agitación magnética VWR a 400 rpm durante toda la noche (Figura 22). Al día siguiente se enfriaron los

tubos, se igualaron los pesos para centrifugar a 4400 rpm (3000 g) por 15 min, el sobrenadante se aforó a un volumen conocido.

Para cuantificar el almidón se colocó una alícuota de 1 mL de las muestras aforadas en tubos eppendorf de 2 mL, se les adicionó 20 μ L de solución de Carrez I y 20 μ L de solución de Carrez II, el pH se neutralizó con 100 μ L de NaOH 0,1 N vortizando después de cada adición, se centrifugó a 15600 g por 15 min y se realizó la prueba de azúcares reductores con DNS. El contenido de almidón se obtuvo multiplicando la tasa de glucosa por el factor 0,9 para compensar la fijación de una molécula de agua por cada molécula de glucosa durante la hidrólisis del almidón (Adrian et al., 2000).



Figura 21. a) Muestras en incubación con α -amilasa termoestable (*Bacillus licheniformis*), a temperatura de ebullición y una agitación a 400 rpm por 30 min. b) Muestra después de los 30 min de hidrólisis.

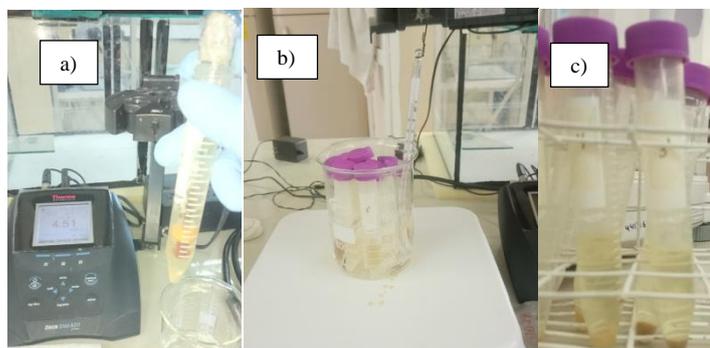


Figura 22. a) Regulación del pH a 4,5. b) Muestras en agitación con α -amilasa termoestable (*Bacillus Licheniformis*) más Amiloglucosidasa (*Aspergillus niger*) a 50 °C a 400 rpm. C) Muestras de harina completamente hidrolizadas.

NOTA: Es importante anotar todos los pesos para tener un valor exacto del factor de dilución de las muestras. Las actividades de las enzimas empleadas en la determinación de almidón y sacarosa se determinaron en el laboratorio como se describe en el ANEXO G.

3.2.3.6 Método del Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para cuantificar azúcares reductores

En tubos de cristal con tapa se colocaron 200 μL de la muestra y 200 μL de la solución de DNS (preparada como se describe en el Anexo H). Los tubos se colocaron en baño de agua a ebullición por 5 min, transcurrido ese tiempo inmediatamente se sumergieron los tubos en un baño de agua fría ($T < 20\text{ }^{\circ}\text{C}$) para detener la reacción y se añadió 2 mL de agua destilada; se agitó y se realizó la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 540 nm frente al blanco descrito en cada tipo de análisis. Se trabajó por triplicado.

3.2.3.7 Curva estándar de Glucosa

Para obtener la curva estándar, se utilizó glucosa secada a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas y enfriada en un desecador. Se pesó 50 mg de glucosa, con aproximación de 0,1 mg, se aforó con agua destilada a 25 mL para obtener una concentración de 2 mg/mL y se rotuló como “solución madre”. De esta solución se tomó diferentes alícuotas para preparar soluciones con concentraciones de: 0,00; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 y 2,00 mg/mL, además se preparó un blanco con agua destilada y se cuantificó los azúcares con solución de DNS preparada disolviendo 1 g de DNS en 40 mL de agua destilada, seguida por la adición de 20 mL de solución de NaOH 2M y 30 g de tartrato de sodio y potasio. La solución se llevó a 100 mL con agua destilada.

3.2.3.8 Cálculo de azúcares reductores, totales y almidón

Se calculó el contenido de azúcares reductores, sacarosa, azúcares totales y almidón tomando en cuenta la curva de calibración de glucosa, las diluciones realizadas, el peso empleado de cada muestra y la absorbancia obtenida (Tabla 13 y 14; ANEXO E).

3.2.4 Determinación de las actividades enzimáticas

Se determinaron las actividades de las enzimas comerciales amiloglicosidasa y α -amilasa empleadas en la cuantificación de almidón así como la actividad de la invertasa preparada en el laboratorio (BIOPROPEPTI) utilizada para la hidrólisis de la sacarosa de las muestras.

3.2.5 Determinación de Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg)

Las muestras para este análisis no necesitaron ser desengrasadas

Para la determinación de Fe, Ca y Mg se tomó como bases los métodos oficiales de la AOAC: para Fe el método 999.10 de la AOAC (2005) y para determinación de Ca y Mg se usó el método 985.35 de la AOAC (1997) por absorción atómica, con la ayuda del Analytical Cookbook PG Instruments Espectrómetro de Absorción Atómica AA500, usando procedimientos descritos por Millán & Abadía, (1981) con modificaciones descritas más adelante.

3.2.5.1 Calcinación de muestras

Los crisoles de porcelana una vez limpios y secos se llevaron a peso constante en una mufla (NABERTHERM) a 650 °C por 4 horas, luego de las cuales se dejaron enfriar en un desecador por 30 min (Figura 23) y se registró el peso de cada crisol vacío. Seguidamente, se agregó aproximadamente entre 0,7 y 1,0 g de muestra, se obtuvo así el peso del crisol más la muestra. Luego se incineraron las muestras 650 °C en una mufla (NABERTHERM) por 8 horas hasta obtener cenizas blancas. Posteriormente, las cenizas se dejaron enfriar en un desecador, para finalmente pesar y se obtuvo el peso del crisol más las cenizas.



Figura 23. Enfriado de las capsulas de porcelana en un desecador por 30 min.

3.2.5.2 Digestión ácida de las cenizas

A las cenizas obtenidas en los crisoles, se les añadió 500 μL de ácido clorhídrico y 250 μL de ácido nítrico, ambos concentrados, se dejó en reposo por un lapso de 15 minutos, si las cenizas no se disolvían completamente se utilizaba una plancha de calentamiento para lograr este objetivo teniendo cuidado con la temperatura que sea la adecuada para evitar que se evaporen los ácidos.

La solución obtenida con la muestra y los ácidos fueron transvasadas a balones de aforo de 25 mL utilizando jeringas de 1 mL para tomar alícuotas pequeñas, haciéndolas pasar a través de filtros de 0,45 μm (AGILENT CAPTIVA, ECONO FILTER), se enjuagó la solución con ácido nítrico 0,14 M para evitar que se tapone el filtro, se aforó a 25 ml con ácido nítrico 0,14 M y se guardaron en recipientes adecuados para su posterior análisis.

3.2.5.3 Curvas de calibración para Calcio, Hierro y Magnesio.

Para obtener estas curvas de calibración de hierro (Fe), calcio (Ca) y magnesio (Mg) se utilizó patrones comerciales para cada metal de 1000 mg/L PG INSTRUMENT. Se prepararon soluciones de estos metales con concentraciones de 50 mg/L para hierro y calcio y de 12 mg/L para magnesio, aforadas con HNO_3 0,14 M, estas soluciones se rotularon como soluciones “madres”. De cada una de las soluciones madres se tomó diferentes alícuotas para preparar distintas concentraciones de

acuerdo a las especificaciones técnicas de sensibilidad del equipo que se detallan a continuación:

Concentraciones para Hierro (Fe): 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 y 2,00 mg/L.

El blanco que se utilizó para medir hierro fue HNO_3 0,14 M

Concentraciones para Magnesio (Mg): 0,06; 0,12; 0,24; 0,36 y 0,48 mg/L.

Concentraciones para Calcio (Ca): 0,50; 1,00; 1,50; 2,00 y 4,00 mg/L.

El blanco que se utilizó para medir calcio y magnesio fue LaCl_3 al 1% p/v. Para la preparación de la curva de Hierro (Fe) se utilizó como diluyente HNO_3 0,14M mientras que para el calcio y magnesio se empleó cloruro de lantano (LaCl_3) al 1% p/v aforados con HNO_3 0,14 M con el fin de evitar interferencias en la medición.

3.2.5.4 Determinación de minerales

Se midió los micronutrientes en el Espectrómetro de Absorción Atómica AA500 mediante el método de la llama utilizando un mechero de aire/acetileno o acetileno/ N_2O .

El contenido de metales se determinó de acuerdo a los siguientes pasos:

Primeramente se puso a punto el equipo para la medición en este orden, se encendió el equipo, la computadora, el compresor y el extractor de aire, se abrió el tanque de gas, se inició el software, y se configuró los parámetros que el equipo requiere de acuerdo al Analytical Cookbook PG Instruments Espectrómetro de Absorción Atómica AA500 según el elemento a medir y, se analizó con la respectiva lámpara para cada metal, por último se encendió la llama para iniciar con la inyección de las muestras.

Se inyectó las soluciones con el capilar ubicado en la parte lateral del equipo (Figura 24), primero se inyectó el blanco (HNO_3 0,14 M para el Fe y LaCl_3 al 1 % p/v en HNO_3 al 0,14 M para Ca y Mg), luego las distintas concentraciones ya preparadas de la curva de calibración (desde la de menor a mayor concentración) y al final las muestras a analizar, la longitud de onda a la que se lee las muestras es propia para

cada metal, la respuesta del equipo hacia estas inyecciones es un valor de absorbancia.

Algunas muestras necesitaron diluciones para no exceder los valores de la curva de calibración, que fueron realizadas con el blanco respectivo.

Las mediciones se realizaron con 10 réplicas con 3 inyecciones para cada muestra.



Figura. 24 Instrumento empleado. PG Instruments AA500

3.2.5.5 Cuantificación de minerales

Se calculó la concentración de Fe, Mg y Ca de las muestras en μg de mineral/g harina en base seca (b.s), tomando en cuenta la curva de calibración, la ecuación de la recta, las diluciones preparadas y el peso empleado de cada muestra. Ver ANEXO F-3

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Materia Prima

4.1.1 Determinación de humedad

En la tabla 1 se presentan los resultados de la determinación de humedad para las semillas de amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), semillas de chía (*Salvia hispánica L.*), papa cruda puca-shungo (*Solanum tuberosum spp.*) y zanahoria blanca cruda (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*) realizados de acuerdo al Método Oficial de Análisis de la Asociación de Químicos Analíticos (AOAC).

Tabla 1. Contenido de humedad de la materia prima.

Materia Prima	Contenido de humedad (%)
Semilla de amaranto	11,02±0,09
Semilla de chía	5,59±0,40
Papa puca-shungo	74,40±0,53
Zanahoria blanca	69,28±0,33

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

Los valores presentados en esta tabla representan la media de 2 réplicas \pm la desviación estándar.

Los valores de humedad para la semilla de amaranto (11,02 %) fueron similares (10,5%) a los obtenidos en un estudio realizado por Resio y Nilda. (1999), además cumplen con el requisito de calidad para granos de amaranto que establece como humedad máxima permitida 13 % (Peralta et al., 2011). Para la semilla de chía se obtuvo un contenido de humedad de 5,59%. En un estudio realizado por Cárdenas (2016) para humedad obtiene un valor similar de 5,71%. Para la papa nativa variedad puca-shungo con cáscara el contenido de humedad fue de 74,40% valor similar al reportado en un estudio realizado por Moreno et al. (2015) que fue del 74,26%. En el caso de la zanahoria blanca se realizó la determinación sin cáscara dando un contenido de humedad del 69,28% mientras que en un estudio realizado por Espín et

al. (2001) para la parte comestible de la zanahoria blanca obtiene un valor de 74,10%, cabe destacar que el contenido de humedad es una de las mediciones más dificultosas de realizar debido a que la variabilidad de los datos puede deberse al método utilizado como también al lugar de procedencia, estado de madurez de cada una de las muestras de estudio.

4.1.2 Determinación de los rendimientos de las harinas

El rendimiento (Ecuación 4) en la elaboración de las diferentes harinas se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2. Porcentaje de rendimiento en la obtención de harinas

Harina	Rendimiento (%)
Amaranto	98,78
Chía	72,71
Papa puca-shungo con cáscara	18,06
Zanahoria blanca sin cáscara	23,60

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

Los valores presentados en esta tabla representan el rendimiento de harinas sin tamizar.

Para el amaranto se obtuvo un rendimiento del 98,78%; este rendimiento fue alto ya que no se realizó tratamientos previos para la extracción sino que se molió el grano en un mortero y no se tamizó para obtener la fracción completa para sus respectivos análisis.

El rendimiento de la chía fue del 72,71% esto se debe al tratamiento previo al que fueron sometidas las semillas para la obtención de esta harina. En un estudio sobre el procesamiento en seco de harina de chía Vázquez et al. (2010) obtuvieron harina triturando directamente las semillas para después desengrasarlas alcanzando un rendimiento del 96,8%, a partir de este resultado se puede concluir que al realizar la hidratación de las semillas para posteriormente prensarlas, secarlas y triturarlas, el rendimiento de obtención disminuye.

El rendimiento de harina para la papa con cáscara fue del 18,06 % y para la zanahoria blanca sin cáscara del 23,60 % con un desperdicio de cáscara del 18,09 %, ya que la mayor parte del peso es agua en ambos casos, por tanto, al ser sometidos al secado se reduce considerablemente su peso (Cuya, 2009). En un estudio realizado por Martínez (2017) el rendimiento para harina de zanahoria blanca sin cáscara fue del 10,4%, en nuestro estudio obtuvimos valores más altos de rendimiento ya que no se tamizaron las harinas debido a que para nuestros análisis se necesita considerar la fracción completa.

4.1.3 Desengrasado de las harinas de Chía y Amaranto

En la Tabla 3 se presentan los resultados del contenido de grasa de chíá y amaranto extraídas mediante el Método Soxhlet (AOAC, 2000) para grasa de cereales y el método de extracción continua de solvente, Método Goldfish descrito por Min & Ellefson, (2010) productos que según bibliografía tienen un alto porcentaje de grasa.

Tabla 3. Contenido de grasa de las harinas de amaranto (*Amaranthus caudatus L.*) y chíá (*Salvia hispánica L.*)

Harina	Contenido de grasa (%)	
	Método Soxhlet	Método Goldfish
Amaranto	7,73±0,05	7,17±0,26
Chía	32,07±0,31	33,63±0,20

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI y laboratorio de Análisis Instrumental (UODIDE-ICIA, Proyecto de Canje de Deuda)

Los valores presentados en esta tabla representan la media de 2 réplicas ± la desviación estándar.

Las harinas fueron desengrasadas, en primera instancia, utilizando el método del Soxhlet obteniendo para amaranto y chíá 7,73 % y 32,37 % de grasa, respectivamente, mientras que con el Método de Goldfish se alcanzaron valores de 7,17% y 33,63%, respectivamente, datos que son comparables con los resultados de estudios llevados a cabo por Peralta (2012) para el amaranto variedad Alegría con un contenido de grasa del 6 al 8% y con los resultados de un estudio realizado por Di Sarpio et al. (2008) para la chíá, donde menciona que es una muy buena fuente de ácidos grasos esenciales con una alta concentración de Omega-3 y que posee de 30 a

33% de grasa, valores muy similares a los de las dos muestras utilizando los dos métodos.

4.2 Cuantificación de azúcares reductores, totales y almidón mediante el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS)

Para la cuantificación de los azúcares reductores, totales y almidón se preparó una curva estándar de glucosa entre 0,2 y 2,0 mg/mL, (ver Anexo C) consiguiendo un coeficiente de correlación de 0,9997 (Figura. 25) cuya ecuación se utilizó para cuantificar azúcares.

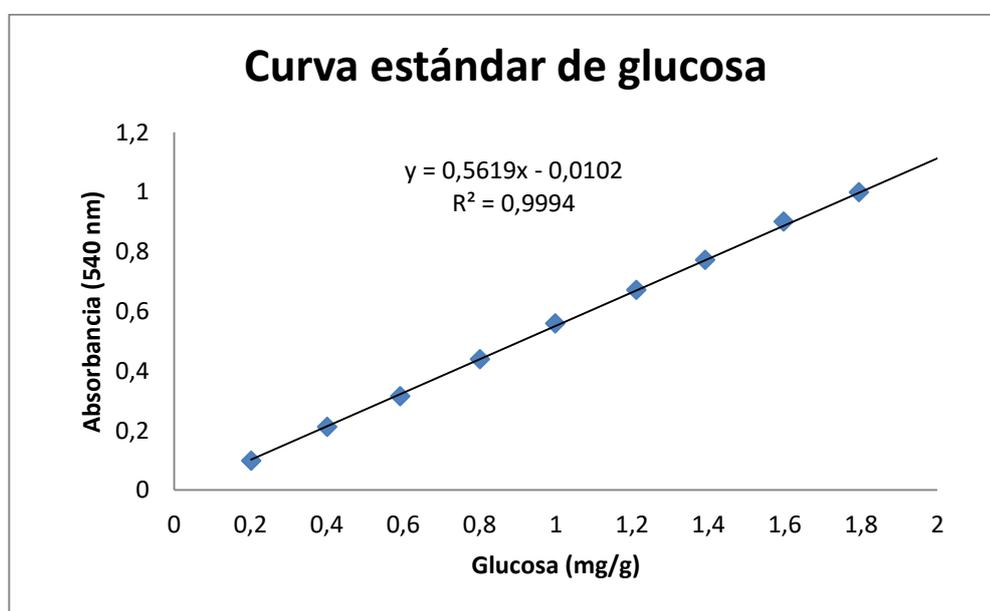


Figura. 25 Curva estándar de Glucosa

La gráfica de la curva estándar de glucosa muestra la correlación de las concentraciones de glucosa y la respuesta del espectrofotómetro (absorbancia a 540 nm) como se observa en la siguiente ecuación:

$$A = m * C + B \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Dónde:

A: Absorbancia medida a 540nm

m: Pendiente de la ecuación de la curva de calibración

C: Concentración (mg/mL ó g)

B: Intercepto de la curva de calibración

El ajuste de la curva es muy bueno con un coeficiente de determinación R^2 de 0,9994 muy cercano al 1 por lo que los cálculos realizados a partir de esta curva estándar de glucosa fueron confiables y satisfactorios.

En la tabla 4 se presentan los resultados de azúcares reductores, azúcares totales y almidón para las harinas de amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), de chía (*Salvia hispánica L.*), papa cruda puca-shungo (*Solanum tuberosum spp.*) y zanahoria blanca cruda (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*)

Tabla 4. Contenido de azúcares reductores, totales y almidón en 4 tipos de harinas

Harinas	Azúcares Reductores (%)	Sacarosa (%)	Azúcares Totales (%)	Almidón (%)	
				En harina	En agua**
Amaranto*	0,11±0,004	1,17±0,03	3,00±0,08	46,49±0,89	
Chía*	0,30±0,01	0,54±0,01	3,66±0,12	3,37±0,09	
Papa puca-shungo	0,64±0,01	1,53±0,02	4,80±0,10	69,52±2,19	4,90
Zanahoria blanca	3,68±0,10	6,26±0,27	20,98±0,65	67,38±1,14	1,78

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

Los valores presentados en esta tabla representan la media de 2 réplicas con 3 medidas de absorbancia (Ver Anexo E) \pm la desviación estándar. * Harinas desengrasadas. ** Porcentaje de almidón desperdiciado en el agua de lavado (estimado por pesaje del residuo precipitado y secado a 40 °C).

El método del DNS al ser un método espectrofotométrico de alta sensibilidad no se recomienda que se lo utilice con muestras muy coloreadas y con un alto contenido de grasa, en el caso de las muestras altas en grasa debido a que interfieren en las correctas lecturas de absorbancia de las muestras (Otero et al., 1986). Por esta razón las harinas de amaranto y chía fueron previamente desengrasadas.

Para la harina de amaranto desengrasada se obtuvieron valores para azúcares reductores de 0,11% en el extracto etanólico. La hidrólisis de los extractos con invertasa permitió estimar directamente el contenido de sacarosa, debido a que se preparó un blanco de reactivos con la invertasa inactivada y el extracto de azúcares. El contenido de sacarosa se obtuvo a partir de las concentraciones de azúcares reductores en el hidrolizado con invertasa considerando que 360 mg de glucosa

proviene de 342 mg de sacarosa, obteniendo así 1,17% de sacarosa, el de azúcares totales 3,00 % y el de almidón de 46,49 %. Pérez y Luzuriaga (2010) en un estudio realizado para harina de amaranto reportaron que el contenido para azúcares reductores es de 1,03 %, almidón de 58,97 % y fibra del 5,18%. El contenido total de carbohidratos en harina de amaranto es de 59,85 % según García, Torres, & Ariza, (2017).

Para la harina de chía desengrasada se obtuvieron valores de azúcares reductores de 0,30 %, de sacarosa de 0,54 %, azúcares totales de 3,66 % y almidón de 3,37 %. Capitani (2013) dice que el contenido de carbohidratos de las semillas de chía está entre 9 y 41%, el contenido de fibra en la harina residual luego de ser extraída la grasa y el mucílago es de aproximadamente un 40%, el 5 % de esta es fibra soluble denominada mucílago, la cual se desperdicia en la extracción de este. El mucílago de las semillas de la chía contiene el 48% de los azúcares totales (Silva, 2013).

Para la papa puca shungo el contenido de azúcares reductores fue de 0,64 %, el de sacarosa del 1,53 %, azúcares totales del 4,80 % y almidón de 74,42 % (valor obtenido a partir de la suma del contenido de almidón en la harina y el desperdiciado en la solución de inmersión). Un estudio realizado por Llumiquinga (2014) sobre la composición química y capacidad antioxidante de tres variedades de papa nativa dice que el contenido de carbohidratos para la variedad puca-shungo es del 87,39 % y de fibra de 2,35 %. Villacrés, Quilca, Muñoz, Monteros & Reinoso (2008) reportaron 87,5 % de almidón. En un estudio realizado por Analuisa, (2012) con la papa nativa puca-shungo con adición de 0,10 % de pirofosfato se obtuvieron valores de azúcares reductores de 0,13 %, en el presente estudio el porcentaje de azúcares reductores y de sacarosa es alto; esto se debe a que el contenido de azúcares reductores está fuertemente influenciado por la variedad, altitud y temperatura; a mayor altitud las temperaturas atmosféricas son menores, por lo tanto a mayor altitud se incrementa el contenido de azúcares reductores (Manrique, 2009). Las temperaturas muy elevadas o bajas en el tubérculo, suelo o ambiente previas al almacenaje también hacen que se incremente en el contenido de azúcares (Valdunciel, 2008).

Es muy habitual que la zanahoria blanca se consuma sin corteza por este motivo se consideró realizar las determinaciones en la parte comestible. El contenido de azúcares reductores fue de 3,68 %, el sacarosa del 6,26 %, azúcares totales 20,98 % y almidón de 69,16 % (valor calculado sumando el contenido de almidón en la harina y el desperdiciado en la solución de inmersión para obtener la harina); un estudio realizado por Espín et al. (2001) sobre la composición química y valor nutritivo de la parte comestible de la zanahoria blanca reporta 1,28 % de azúcares reductores, 3,72 % de azúcares totales y almidón 72,18 %. y en muestra entera 1,73-3,48 % de azúcares reductores, 3,82-15,22 % de azúcares totales y almidón 48,55-85,58% (Espín et al., 2004). Hernández (2001) en su estudio del aprovechamiento de la zanahoria blanca como adjunto para la elaboración de cerveza caracteriza la harina obtenida y reporta valores para azúcares reductores del 4,30 %, azúcares totales 8,15 %, almidón 70,95 % y fibra cruda el 3,33 %.

Los tubérculos como las raíces son una fuente importante de almidón, polímero de glucosa, valioso en la alimentación humana que aporta energía (Barrera et al., 2004), la harina de papa presenta un alto contenido de almidón 74,42 %, seguida de la harina de zanahoria blanca con 69,16 %.

4.3 Determinación de los elementos minerales: Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg).

4.3.1 Determinación de hierro, calcio y magnesio

Las curvas de calibrado fueron preparadas diariamente a partir de sus respectivos patrones acuosos monoelementales de 1 g/L haciendo diluciones apropiadas para preparar concentraciones dentro del intervalo lineal de cada metal, ver Tabla 16 ANEXO F-1 y ANEXO F-3.

4.3.2 Análisis de hierro, magnesio y calcio en las 4 harinas

La concentración de hierro, magnesio y calcio para todas las harinas se obtuvo a partir de comparación directa de la señal de la muestra frente a la de las respectivas señales de los patrones acuosos. Se realizaron 10 réplicas en cada determinación. Los

valores de las concentraciones de los micronutrientes se indican en la Tabla 5, están reportaron en μg de metal por g de harina seca.

Tabla 5. Concentración de hierro, calcio y magnesio para los 4 tipos de harinas

Harina	[Fe] ($\mu\text{g Fe/g}$ de harina)	[Mg] ($\mu\text{g Mg/g}$ de harina)	[Ca] ($\mu\text{g Ca/g}$ de harina)
Amaranto	52,7 \pm 1,00	2716,6 \pm 117,9	1215,2 \pm 54,4
Chía	93,0 \pm 1,88	4194,4 \pm 136,4	4861,2 \pm 307,8
Papa puca-shungo*	85,8 \pm 8,7	1100,1 \pm 160,7	309,6 \pm 17,8
Zanahoria blanca	20,5 \pm 1,57	593,5 \pm 18,6	1561,9 \pm 36,1

Fuente: Laboratorio CANJE DE DEUDA

Los valores presentados en esta tabla representan el promedio de las 10 réplicas con 3 mediciones \pm la desviación estándar * Datos obtenidos en un estudio realizado para la variedad papa puca-shungo por Balladares, (2018).

Para la harina de amaranto se obtuvieron valores de hierro de 52,7 $\mu\text{g/g}$, magnesio 2716,6 $\mu\text{g/g}$ y calcio 1215,2 $\mu\text{g/g}$. Alvarez-Jubete, Arendt & Gallagher (2009) reportan para semillas de amaranto valores de hierro de 92,0 $\mu\text{g/g}$, magnesio 2792,0 $\mu\text{g/g}$ y calcio 1801,0 $\mu\text{g/g}$.

Para la harina de chía se determinaron valores de hierro de 93,0 $\mu\text{g/g}$, magnesio 4194,4 $\mu\text{g/g}$ y calcio 4861,2 $\mu\text{g/g}$. Di Sarpio et al. (2008) reportan valores para la semilla de chía de 7140 $\mu\text{g/g}$ para calcio, 164 $\mu\text{g/g}$ para hierro y 3900 $\mu\text{g/g}$ para magnesio; en comparación con la leche, las semillas de chía presentan un contenido 6 veces mayor de calcio.

Para la harina de papa puca-shungo se obtuvieron valores de hierro de 85,8 $\mu\text{g/g}$, magnesio 1100,1 $\mu\text{g/g}$ y calcio 309,6 $\mu\text{g/g}$. Villacrés, Quilca, Muñoz, Monteros, & Reinoso (2008) reportaron valores de hierro de 62,0 $\mu\text{g/g}$.

Se obtuvieron valores de hierro de 20,5 $\mu\text{g/g}$, magnesio 593,5 $\mu\text{g/g}$ y calcio 1561,9 $\mu\text{g/g}$ para zanahoria blanca; valores similares obtuvo Hernández (2001) para

hierro y magnesio en su estudio del aprovechamiento de la zanahoria blanca como adjunto para la elaboración de cerveza donde caracteriza la harina obteniendo valores de hierro de 17,84 $\mu\text{g/g}$, magnesio 520 $\mu\text{g/g}$ y calcio 960 $\mu\text{g/g}$, en dicho estudio, se utilizó ácido cítrico (0,01%), ácido ascórbico (0,05%) y metabisulfito al (0,01%) durante 20 min para evitar el pardeamiento enzimático; en tanto que en el nuestro se utilizó metabisulfito de sodio al (0,01%). En la molienda a medida que se hace mayor el refinado de la harina se van perdiendo vitaminas y minerales, la diferencia en el contenido de vitaminas y minerales de una harina integral y una refinada puede ser muy importante, también la solubilidad de las vitaminas y minerales aumenta en agua (Panés, 2011).

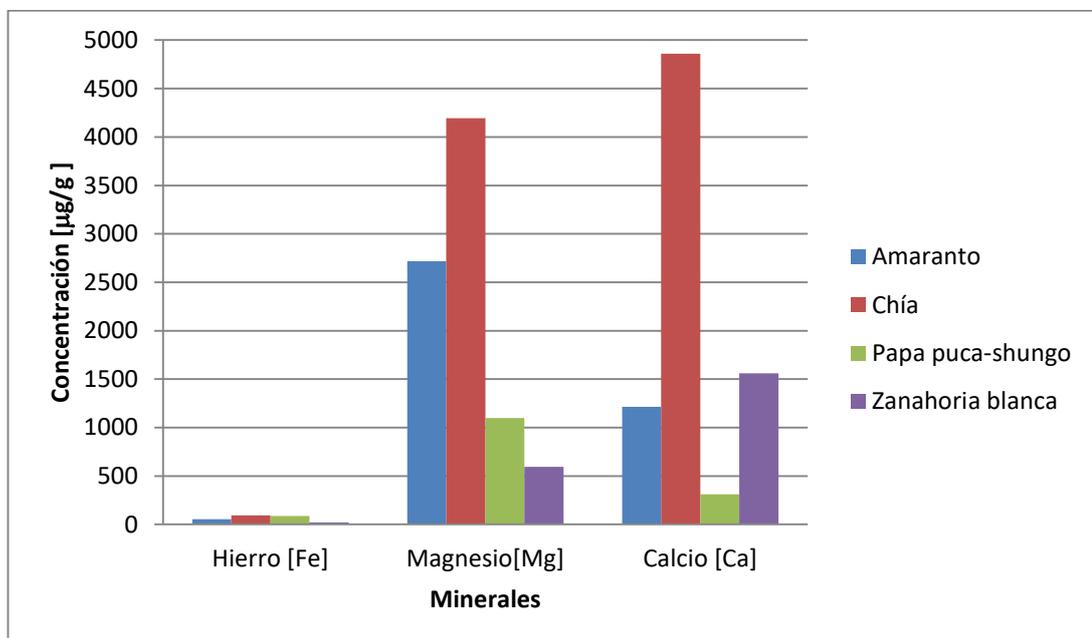


Figura. 26 Concentración de Hierro (Fe), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) en harinas de amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus* L.), de chía (*Salvia hispánica* L.), papa cruda puca-shungo (*Solanum tuberosum* spp.) y zanahoria blanca cruda (*Arracacha xanthorrhiza* Bancroft)

Se puede observar en la Figura 26 que de las 4 harinas estudiadas en la presente investigación, la harina de chía presenta el más alto contenido de hierro con 93 $\mu\text{g/g}$, magnesio con 4194,4 $\mu\text{g/g}$ y calcio con 4861,2 $\mu\text{g/g}$, mientras que la harina de zanahoria blanca presenta el más bajo contenido de hierro con 20,5 $\mu\text{g/g}$ y magnesio 593,5 $\mu\text{g/g}$ y para el calcio, la harina de papa puca-shungo tiene la más baja cantidad, con 309,6 $\mu\text{g/g}$.

4.4 Verificación de la hipótesis

Los resultados de la determinación del contenido de azúcares reductores, totales, almidón y de los elementos minerales Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Magnesio (Mg) en harinas de Amaranto variedad Alegría (*Amaranthus caudatus L.*), Chía (*Salvia Hispanica L.*), Papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum*), y Zanahoria Blanca (*Arracacha xanthorrhiza Bancroft*) conducen a la aceptación de todas las hipótesis alternativas, ya que al trabajar con 4 diferentes harinas cada una tiene sus características propias.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se adaptó una metodología para la determinación del contenido de azúcares reductores, sacarosa, azúcares totales y almidón en la cual se emplean volúmenes pequeños de reactivos, verificando que los capuchones empleados en la extracción no retienen azúcares (eficiencia de más del 90%). Se empleó en cada determinación el método del DNS, obteniendo un coeficiente de variación menor al 5 % en todas las determinaciones, la cualidad que se puede destacar es que este método es muy fácil de aplicar, confiable y no requiere del empleo de reactivos costosos y las cantidades empleadas son pequeñas lo que representa una ventaja económica.
- Se determinó el contenido de azúcares reductores, sacarosa, azúcares totales y almidón en harinas de chíá, amaranto, papa puca-shungo y zanahoria blanca, utilizando una curva patrón de glucosa y el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), determinando un tratamiento adecuado para cada una de las matrices con la finalidad de reducir al máximo interferencias en el análisis como turbidez, ya que el método del DNS al ser un método espectrofotométrico de alta sensibilidad esta turbidez interfiere en las correctas lecturas de absorbancia (Otero et al., 1986), por lo que las muestras que contenían un porcentaje alto de grasa se sometieron a un desengrasado previo, además fue necesaria la utilización de los Carrez para un mejor precipitado (clarificación) de las muestras. Concluyendo que la harina de zanahoria blanca presenta mayor cantidad de azúcares con respecto a las demás harinas estudiadas, las harinas de papa puca-shungo, zanahoria blanca y amaranto contienen una cantidad importante de almidón que aportan la energía necesaria para que se lleven a cabo las funciones en nuestro organismo y pueden ser consideradas para ser utilizadas en la industria de alimentos.

- Se determinó el contenido de hierro, calcio y magnesio en harinas de chía, amaranto, papa puca-shungo y zanahoria blanca utilizando una curva patrón para cada mineral mediante el uso de patrones externos por el método de absorción atómica concluyendo que la harina de chía presenta el mayor contenido en los tres minerales de estudio, siendo el calcio el mineral encontrado en mayor cantidad, la riqueza nutricional de la chía la convierte en un ingrediente ideal que puede ser adicionado en diversos productos, igualmente la harina de amaranto presenta un alto contenido de calcio y al no contener gluten las dos pueden ser consumidas por celíacos y por personas intolerantes a la lactosa para así cubrir la demanda de calcio que necesitan para su correcto funcionamiento, también se puede concluir que las harinas de papa puca shungo y zanahoria blanca no son una buena fuente de estos tres minerales.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda recuperar el etanol del extracto de azúcares en un rotavapor operado a vacío para así evitar que la muestra se queme y que las lecturas de absorbancia sean incorrectas.
- Los capuchones que se utilizan en la extracción de azúcares no deben ser reutilizados más de dos veces, ya que los datos obtenidos varían significativamente.
- Se debe controlar la intensidad del calor suministrados por las planchas de calentamiento del Goldfish, ya que producen significativas variaciones en los resultados debido a que la velocidad de extracción es diferente.
- Los estudios realizados para estos tipos harinas son escasos por lo que se podría ampliar la investigación realizando la digestibilidad y caracterización del almidón.

BIBLIOGRAFÍA

- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., & Dauvillier, P. (2000). *Análisis nutricional de los alimentos*. Zaragoza-España: ACRIBIA S.A.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(S4), 240–257. <https://doi.org/10.1080/09637480902950597>
- Álvarez, D. (2016). *Determinación de sodio, potasio, hierro, calcio y zinc en arveja y harina de haba por espectrofotometría de absorción atómica de llama*. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito- Ecuador.
- Álvarez, J. (2009). Carbohidratos. *Bioquímica: Carbohidratos*, 2(1), 1–36. Retrieved from depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CARBOHIDRATOS_21119.pdf
- Analuisa, G. (2012). *Evaluación del efecto del pirofosfato ácido sobre las antocianinas en la elaboración de hojuelas de papa nativa (Solanum andígena) de tres variedades (Pucashungo, Yanashungo y Yema de huevo)*. (Tesis de grado). Universidad técnica de Ambato. Ambato-Ecuador. Retrieved from <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/5301/Mg.DCEv.Ed.1859.pdf?sequence=3>
- AOAC. (1997). Official Method of Analysis 985.35. Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. 18th Edition. Cap 50.
- AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of A.O.A.C. 920.39C. International. 17th Edition. Maryland, USA.
- AOAC. (2005). Official Method of Analysis 999.10. Lead, Cadmium, Zinc Copper, and Iron in Foods. 18th Edition. Cap 9.
- AOAC. (2012). Official Method of Analysis 925.10. Moisture determination. 15th Edition. USA.
- Ayala, G. (2004). Aporte de los Cultivos andinos a la Nutrición Humana. In *Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación*. (pp. 101–112). Lima, Perú. Retrieved from http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/10737%5Cnhttp://www.cipotato.org/artc1/series/06_PDF_RTAs_Capacitacion/07_Aporte_cultivos_andinos_nutric_human.pdf

- Badui, S. (1993). *Química de los Alimentos*. México: Alhambra Mexicana, Editorial, SA de CV.
- Badui, S. (2014). *Química de los Alimentos* (Quinta). México: Pearson Education.
- Balladares, V. (2018). *Evaluación del contenido de antocianinas y micronutrientes (hierro, magnesio y calcio) en papas nativas (Solanum andigena) enteras y peladas de las variedades Puca Shungo, Yana Shungo y Yema de huevo. (Tesis de grado)*. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador.
- Barrera, V., Tapia, C., & Monteros, A. (2004). *Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo*. (V. Barrera, C. Tapia, & A. Monteros, Eds.), *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador* (Vol. 4). Quito, Ecuador-Lima, Perú. Retrieved from [http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Raíces y Tubérculos Alternativas para el uso sostenible en Ecuador.pdf](http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Raíces_y_Tubérculos_Alternativas_para_el_uso_sostenible_en_Ecuador.pdf)
- Bressani, R., & Rodas, B. (2007). Caracterización química y nutricional de variedades de grano de amaranto y algunas aplicaciones. *Revista de La Universidad Del Valle de Guatemala*, 16, 42–62.
- Butcher, D., & Sneddon, J. (1998). *Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*. New York: John Wiley & Sons.
- 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, Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Química. Argentina.
- Cárdenas, M. (2016). *Obtención de aislados proteicos de chía (Salvia hispánica L.) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante. (Tesis de grado)*. Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador.
- Carrasco, E., & Soto, J. L. (2010). Importancia de los granos andinos. In W. Rojas, J. L. Soto, M. Pinto, M. Jager, & S. Padulosi (Eds.), *Granos Andinos, Avances, logros y experiencias desarrolladas en quinua, cañahua y amaranto en Bolivia* (pp. 6–10). Bioersity International, Roma, Italia.
- Carrasco, H., & Tejada, S. (2008). *Soberanía alimentaria: la libertad de elegir para asegurar nuestra alimentación*. (Fernando Lecaros, Ed.), *Soluciones Prácticas -*

- ITDG. Perú: Servicios Generales. Retrieved from <http://www.oda-alc.org/documentos/1371488879.pdf>
- Cuya, R. (2009). *Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (Tropaeolum tuberosum R & P). (Tesis de Maestría)*. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Retrieved from http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1703/TAL_15-119-TM.pdf?sequence=1http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1703/TAL_15-119-TM.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Di Sapiro, O., Bueno, M., Busilacchi, H., Quiroga, M., & Severin, C. (2012). Caracterización Morfoanatómica de Hoja, Tallo, Fruto y Semilla de Salvia hispanica L. (Lamiaceae). *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromaticas*, 11(3), 249–268.
- Di Sapiro, O., Bueno, M., Busilacchi, H., & Severin, C. (2008). Chía : Importante Antioxidante Vegetal. *Revista Agromensajes de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 11–13. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. . (1992). “Classification and measurement of nutritionally important starch fractions.” *European Journal of Clinical Nutrition*, 46(Suppl 2), S33-50. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1330528>
- Espín, S., Brito, B., Villacrés, E., Rubio, A., Nieto, C., & Grijalva, J. (2001). Composición Química, Valor Nutricional y Usos Potenciales de Siete Especies de Raíces y Tubérculos Andinos. *Acta Científica Ecuatoriana*, 7(1), 49–63. Retrieved from <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1045/1/T-SENECYT-0230.pdf>
- Espín, S., Villacrés, E., & Brito, B. (2004). Caracterización Físico - Química , Nutricional y Funcional de Raíces y Tubérculos Andinos. In *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador* (pp. 91–116). Quito- Ecuador. Retrieved from <http://www.monitoreoyevaluacion.info/biblioteca/files/original/f1ce784ad56186d4fbec1a60f9e8e757.pdf#page=102>
- FAO. (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. *Kraisid, Tontisirin*, 20(29), 5–25. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- FAO. (2015). Macronutrientes y micronutrientes. *Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación Y La Agricultura*, 2. Retrieved from [http://www.fao.org/elearning/Course/NFSLBC/es/story_content/external_files/Macronutrientes y micronutrientes.pdf](http://www.fao.org/elearning/Course/NFSLBC/es/story_content/external_files/Macronutrientes_y_micronutrientes.pdf)
- García, Á., Torres, O., & Ariza, H. (2017). Physical-chemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd .), amaranth (*Amaranthus caudatus* L .), and chia (*Salvia hispanica* L .) flours and seeds. *Agroindustry and Food Science*, 67(2), 215–222. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n2.63666>
- Hernández, M. (2001). *Aprovechamiento de la zanahoria blanca (Arracada xanthorrhiza) como adjunto para la elaboración de cerveza tipo Lager. (Tesis de grado)*. Iniap. Universidad Técnica de Ambato. Ambato.Ecuador. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Huaraca, H. (2011). *Manejo Integrado de los Cultivos de Quinoa, Amaranto y Ataco. Módulos de Capacitación paa Capacitadores. Módulo II. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. INIAP. Iniap (Vol. 12)*. Quito-Ecuador: Publicación Miscelánea 182. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Jacobsen, S.-E., & Sherwood, S. (2002). *Cultivo de granos andinos en ecuador. Informe sobre los rubros quinua, chocho y amaranto*. Quito-Ecuador: ABYA-YALA.
- Llumiquinga, T. (2014). *Composición química y capacidad antioxidante de tres variedades papas nativas (Solanum tuberosum): yana shungo, puca shungo y leona negra. (Tesis de grado)*. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.uisrael.edu.ec/bitstream/47000/688/1/UISRAEL-EC-PTM-378.242-109.PDF>
- Manrique, K. (2009). Las deficiencias en poscosecha en la cadena productor - consumidor de la papa en el Perú. Retrieved from <http://es.scribd.com/doc/23531756/Las-deficiencias-en-postcosecha-en-la-cadenaproduccion-consumidor-de-la-papa-en-el-Peru>.
- Manual. (2014). Elemental spectroscopy. *Analytical Instruments for Science*, pp. 1–43. Retrieved from www.pginstruments.com
- Martínez, V. (2011). *EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE*

- TRIGO, POR DOS TIPOS DE HARINA DE ZANAHORIA BLANCA (Arracacia xanthorrhiza), EN LA CALIDAD DE LA PASTA. (Tesis de grado).* Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador.
- Meneses, J., Corrales, C. M., & Valencia, M. (2007). SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL ALMIDÓN DE YUCA. (Spanish). *Revista EIA*, (8), 57–67. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=32767495&lang=es&site=ehost-live>
- Millán, E., & Abadía, A. (1981). Comparación de distintos procedimientos analíticos para la determinación de Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn en material vegetal. Zaragoza.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugars. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Min, D., & Ellefson, W. (2010). Fat Analysis. In S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* ((Fourth Ed, p. 117). USA: Springer. <https://doi.org/10.1038/1841347a0>
- Monteros, C., Yumisaca, F., Andrade-Piedra, J., & Reinoso, I. (2010). Papas Nativas de la Sierra Centro y Norte del Ecuador. In *Cátalogo etnobotánico, morfológico, agronómico y de calidad INIAP. Centro Internacional de la Papa* (p. 144). Quito-Ecuador. Retrieved from <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/73247>
- Monteros, C., Yumisaca, F., Tello, C., Pallo, E., Reinoso, I., Garófalo, J., ... Cuesta, X. (2008). INIAP PUCA SHUNGO. *Varietad Para Consumo En Fresco, INIAP Puca Shungo*, 12, 10. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Moreno, C., Andrade, M. J., Oña, G., Llumiyinga, T., & Concellón, A. (2015). Composición Química y Capacidad Antioxidante de Papas Nativas. *Revista Científica Ecuatoriana*, 2(2), 20–26.
- Moreno, J. (2000). Calidad de la papa para usos industriales. *Papas Colombianas 2000*. Retrieved from <http://www.redepapa.org/calidadpapa.pdf>
- NIBA, L. L. (2005). *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering - 4 Volume Set*. (Y.H.HUI, Ed.), *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering* (Associate, Vol. 20054378). Virginia Polytechnic Institute and

- State University: Taylor&Francis. <https://doi.org/10.1201/b15995>
- Nieto, P. (2012). Evaluación del comportamiento agronómico y calidad agroindustrial de ocho genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) en tres localidades de la sierra ecuatoriana. *Fortalecimiento de La Innovación Agrícola Pro-Pobre Para La Seguridad Alimentaria*, 1–18.
- Otero, M. ., Reyes, A., & Martínez, S. (1986). Limitaciones del método del ácido 3-5 dinitrosalicílico en mieles finales. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 20(1), 20–25. Retrieved from <http://biblat.unam.mx/es/revista/icidad-sobre-los-derivados-de-la-cana-de-azucar/articulo/limitaciones-del-metodo-del-acido-3-5-dinitro-salicilico-en-mieles-finales>
- Panés, M. (2011). Causas Generales de Pérdidas de Vitaminas y Minerales en los Alimentos. Retrieved from <https://www.lacocinasana.com/consejos-nutricion/causas-generales-de-perdidas-de-vitaminas-y-minerales-en-los-alimentos.html>
- Paz de Andrade, M. (2014). Glúcidos. Definición ABC. Retrieved from <https://www.definicionabc.com/salud/glucidos.php>
- Peralta, E. (2010). *Producción y distribución de semilla de buena calidad con pequeños agricultores de granos andinos, Chocho, Quinoa, Amaranto sistema no convencional. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos.*
- Peralta, E. (2012). *El amaranto en Ecuador. "Estado del Arte." Científica* (Vol. I). Retrieved from <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/ESTADO DEL ARTE DEL AMARANTO EN ECUADOR.pdf>
- Peralta, E., Mazón, N., Murillo, Á., Rivera, M., Rodríguez, D., Lomas, L., & Monar, C. (2012). *Manual Agrícola de Granos Andinos: Chocho, Quinoa, Amaranto y Ataco. Cultivos, variedades y costos de producción. Miscelánea* (Tercera ed, Vol. 69). Quito- Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/833>
- Peralta, E., Villacrés, E., Mazón, N., & Rivera, M. (2011). Conceptos y parámetros de calidad para el grano de amaranto. *Programa Nacional de Leguminosas Y Granos Andinos Y Departamento de Nutrición Y Calidad*, 53(154), 32. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Pérez, C., & Luzuriaga, Ó. (2010). Caracterización de la Harina de Semillas de Amaranto *Amaranthus Caudatus* para Elaboración de Pan en Mezclas con

- Harina de Trigo. *Química Central*, 1(1), 61–70.
- Porr, M. (2012). El amaranto – pequeñas semillas con fuerzas colosales. *Informativo-Científico*, 1, 1–12. Retrieved from www.el-pan-alegre.org/Guia_Amaranto.pdf
- Pritchard, M. ., & Adam, L. . (1994). Relationships between fry color and sugar concentration in stored russet burbank and shepody potatoes, 3(892), 69–78.
- Resio, C., & Nilda, A. (1999). *Almidón de amaranto : Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas*. Universidad de Buenos Aires.
- Rivers, D. B., Gracheck, S. J., Woodford, L. C., & Emert, G. H. (1984). Limitations of the DNS assay for reducing sugars from saccharified lignocellulosics. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(7), 800–802. <https://doi.org/10.1002/bit.260260727>
- Silva, C. (2013). *Evaluación técnica comercial del aprovechamiento de la semilla de chíá (salvia hispanica) para la elaboración de productos alternos*. *Journal of Chemical Information and Modeling*. Universidad de las Américas. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Suquilanda, M. B. (2007). Producción orgánica de haba (Vicia faba). *Producción Orgánica de Cultivos Andinos (Manual Técnico)*, 126, 192. Retrieved from http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf
- Timerman, A. (2012). The Isolation of Invertase from Baker’s Yeast – An Introduction to Protein Purification Strategies. *World’s Largest Science, Technology & Medicine Open Access Book Publisher. InTech.*, 26. <https://doi.org/10.5772/50570>
- Valdunciel, J. (2008). Métodos de valoración para patatas. *INIA. Instituto Nacional de Investigación Y Tecnología Agraria Y Alimentaria*, 13.
- Vázquez, J. A., Rosado, J. G., Chel, L. A., & Betancur, D. A. (2010). Procesamiento en seco de harina de chíá (*Salvia hispanica* L.): Caracterización química de fibra y proteína. *CyTA - Journal of Food*, 8(2), 117–127. <https://doi.org/10.1080/19476330903223580>
- Vera, G. (2016). *Determinación de azúcares totales. Hidratos de carbono disponibles y factores de cálculo de energía en alimentos*. Universidad de Chile.
- Villacrés, E., Quilca, N., Muñoz, R., Monteros, C., & Reinoso, I. (2008). Caracterización física, nutricional y funcional de papas nativas (*Solanum*

tuberosum ssp.) para orientar sus usos en Ecuador. *Revista Latinoamericana de La Papa*, 15, 10. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/1497/1/iniapscr2009CD14CVc.pdf>

ANEXOS

ANEXO A
ANÁLISIS DE HÚMEDAD DE LA
MATERIA PRIMA Y
DESENGRASADO DE LA
HARINA

Tabla 6. Datos para el cálculo de humedad de la materia prima

	Réplica	W cápsula (g)	W muestra (g)	W cap. + muestra 24 horas desp. (g)	W muestra 24 horas desp. (g)	Materia seca (%)	Humedad (%)	Promedio Humedad (%)	D.E	C.V
AMARANTO	1	19,5717	2,0037	21,3559	1,7842	89,0453	10,9547	11,02	0,09	0,01
	2	19,1268	2,0057	20,9101	1,7833	88,9116	11,0884			
CHÍA	1	19,2344	2,0019	21,1302	1,8958	94,7	5,3000	5,59	0,40	0,07
	2	19,1142	2,006	21,0023	1,8881	94,1226	5,8774			
PAPA PUCA-SHUNGO	1	19,1143	2,0201	19,6238	0,5095	25,2215	74,7785	74,40	0,53	0,01
	2	19,1273	2,0132	19,6502	0,5229	25,9736	74,0264			
ZANAHO-RIA BLANCA	1	19,2351	2,0291	19,8535	0,6184	30,4766	69,5234	69,28	0,33	0,01
	2	19,5721	2,0004	20,1913	0,6192	30,9538	69,0462			

Tabla 7. Datos para la cuantificación de grasa de las harinas de amaranto (*Amaranthus caudatus L.*) y chía (*Salvia hispánica L.*) (Método Soxhlet)

	Replica	W papel filtro (g)	W muestra (g)	W final muestra +papel filtro (g)	W final de la muestra (g)	W balón inicial (g)	W balón final (g)	Grasa* (%)
Amaranto	1	1,1674	7,0216	7,5491	6,3817	151,1414	152,1324	7,73
	2	1,152	7,0381	7,5924	6,4404			
Chía	1	1,1681	7,0038	6,4184	5,2503	151,1233	154,4669	32,18
	2	1,5829	7,0505	6,7597	5,1768			

*Calculada a partir de los datos del residuo de harina sin grasa y de la grasa colectada en el balón

Tabla 8. Datos para la cuantificación de grasa de las harinas de amaranto (*Amaranthus caudatus L.*) y chía (*Salvia hispánica L.*) (Método Goldfish)

	Replica	W capuchón (g)	W muestra inicial (g)	W vaso +núcleo inicial (g)	W vaso+ núcleo final (g)	W m + cap después des (g)	W muestra des deseng (g)	Grasa (%)	Promedio Grasa (%)	D.E	C.V
A	1	2,9001	2,5231	76,7685	76,9449	5,2625	2,3624	6,9914	7,17	0,26	0,03
	2	3,0584	2,5114	78,9266	79,1114	5,4169	2,3585	7,3584			
C	1	3,4602	2,5264	79,4618	80,3077	5,1867	1,7265	33,4824	33,63	0,20	0,01
	2	3,5182	2,517	79,0448	79,8948	5,2582	1,74	33,7704			

*A=Amaranto, C=Chía

ANEXO A-1

FOTOGRAFÍAS ANÁLISIS DE

HÚMEDAD DE LA MATERIA

PRIMA Y DESENGRASADO DE

LA HARINA



Figura 27. Secado de las muestras para determinación de humedad



Figura 28. Extractor Soxhlet para grasa



Figura 29. Extractor de grasa. (Método Golffish)

ANEXO B

ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO

DE LA OBTENCIÓN DE LAS

DIFERENTES HARINAS

Tabla 9. Rendimiento de la obtención de harinas y almidón desperdiciado

	W materia prima (g)	W Cáscara (g)	W después del secado 24 horas (g)	W después de la molienda (g)	W almidón después de secado (g)	Rendimiento Harina (%)	Rendimiento Almidón (%)
Amaranto	5,0042	////	//////	4,9431	////	98,77903	////
chía	20,045	////	////	14,576	///	72,71639	//////
Papa Puca-SH	2086	////	379,28	376,77	18,4966	18,06184	4,9092
Zanahoria Blanca	2302	416,55	544,73	543,31	9,6714	23,60177	1,7800

Para determinar el rendimiento en la extracción de las harinas se pesó al inicio la materia prima y al final del proceso la harina. Para el cálculo del porcentaje de rendimiento se aplicó la siguiente formula:

$$\%R = \frac{W_f}{W_0} * 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

Dónde:

%R: rendimiento de la obtención de harina

W_f : peso final de la harina

W_0 : peso inicial de la materia prima

$$\%R = \frac{376,77 \text{ g}}{2086 \text{ g}} * 100$$

$$\%R = 18,06$$

ANEXO B-1

FOTOS OBTENCIÓN DE LAS

DIFERENTES HARINAS



Figura 30. Pelado y cortado de Zanahoria Blanca



Figura 31. Colocado de las rodajas en las bandejas después de la inmersión en metabisulfito 0,01%



Figura 32. Secado de las rodajas de Zanahoria Blanca



Figura 33. Molienda de las rodajas secas de Zanahoria Blanca



Figura 34. Lavado de papa Puca-shungo



Figura 35. Cortado de rodajas de papa e inmersión en agua



Figura 36. Secado de las rodajas de papa



Figura 37. Molido de las rodajas secas de papa

ANEXO C

DATOS OBTENIDOS PARA LA

CURVA ESTÁNDAR DE

GLUCOSA

Tabla 10. Datos para la elaboración de la curva de glucosa

V. Glucosa (mL)	W. glucosa (g)	V. Agua (mL)	W. total (g)	[Glucosa] (mg/mL)	Absorbancia (540nm)
0,1	0,0993	0,9	0,9879	0,2011	0,099
0,2	0,1973	0,8	0,9867	0,4002	0,213
0,3	0,2904	0,7	0,9814	0,5919	0,316
0,4	0,3912	0,6	0,9771	0,8009	0,44
0,5	0,4926	0,5	0,987	0,9984	0,56
0,6	0,5976	0,4	0,9872	1,2109	0,672
0,7	0,6863	0,3	0,9871	1,3908	0,773
0,8	0,8038	0,2	1,0007	1,5967	0,901
0,9	0,8935	0,1	0,9963	1,7940	1
1			0,9794	2,0004	1,096

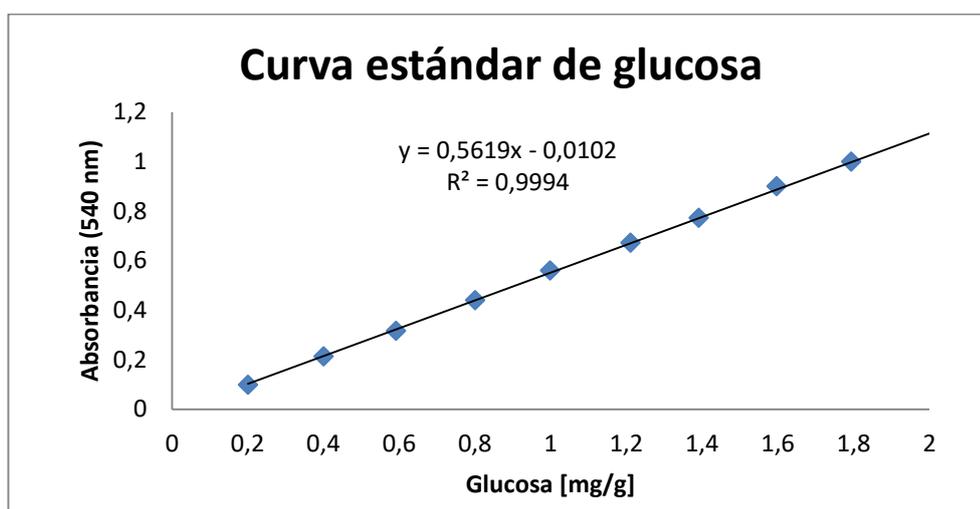


Figura 38. Curva estándar de Glucosa

La gráfica de la curva estándar de glucosa muestra la correlación de las concentraciones de glucosa y la respuesta del espectrofotómetro (absorbancia a 540 nm) como se observa en la siguiente ecuación:

$$A = m * C + B \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Dónde:

A: Absorbancia medida a 540nm

m: Pendiente de la ecuación de la curva de calibración

C: Concentración (mg/mL ó g)

B: Intercepto de la curva de calibración

ANEXO D

**DATOS OBTENIDOS EN LA
EXTRACCIÓN DE AZÚCARES**

Tabla 11. Datos obtenidos en la extracción de azúcares

Muestra	W capuchón (g)	W muestra (g)	W cap + muestra f (g)	W capuchón solo final (g)	W muestra final (g)	W aforo (g)
Amaranto	2,9001	2,3624	5,3297	3,0874	2,2423	10,0166
Amaranto'	3,0584	2,3585	5,4921	3,2623	2,2298	10,0114
Chía	3,4602	1,7265	5,2398	3,669	1,5708	10,0155
Chía'	3,5182	1,74	5,3681	3,7754	1,5927	10,032
Papa Puca-shungo	3,2321	2,5171	6,0289	3,5859	2,443	25,0071
Papa Puca-shungo'	3,2122	2,501	5,8409	3,4169	2,424	25,0139
Zanahoria Blanca	3,4461	2,5177	6,1751	3,8148	2,3603	25,011
Zanahoria Blanca'	3,4301	2,507	6,0498	3,7734	2,2764	25,0014

ANEXO E

DATOS OBTENIDOS PARA EL

ANÁLISIS DE AZÚCARES

REDUCTORES, TOTALES,

SACAROSA Y ALMIDÓN

Tabla 12. Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores

MUESTRA	ABSORBANCIA (540 nm)			AZÚC RED.	AZÚC RED.	AZÚC RED.	Promedio %	D.E	CV
	R 1	R 2	R 3	%	%	%			
AMARANTO1	0,135	0,139	0,138	0,12	0,12	0,12	0,11	0,00	3,72
AMARANTO 2	0,128	0,13	0,125	0,11	0,11	0,11			
CHIA1	0,356	0,351	0,357	0,29	0,29	0,29	0,30	0,01	2,73
CHIA2	0,354	0,372	0,373	0,29	0,31	0,31			
PUCA SHUN1	0,312	0,307	0,304	0,65	0,64	0,63	0,64	0,01	1,40
PUCA SHUN2	0,311	0,301	0,303	0,64	0,62	0,63			
Z. BLANCA1	0,434	0,444	0,434	3,56	3,64	3,56	3,68	0,10	2,85
Z. BLANCA2	0,459	0,467	0,457	3,75	3,81	3,73			

Tabla 13. Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores luego de la hidrólisis de las muestras con invertasa

MUESTRA	Factor Dilución	ABSORBANCIA (540nm)			AZÚC RED.	AZÚC RED.	AZÚC RED.	Prome dio %	D.E	CV
		R1	R2	R3	%	%	%			
AMARANTO1	1/8	0,202	0,202	0,208	1,20	1,20	1,23	1,23	0,03	2,45
AMARANTO 2	1/8	0,208	0,213	0,213	1,24	1,27	1,27			
CHIA1	1/8	0,093	0,088	0,085	0,58	0,55	0,54	0,57	0,02	3,19
CHIA2	1/8	0,093	0,09	0,089	0,59	0,57	0,56			
PUCA SHUN1	1/8	0,103	0,103	0,104	1,60	1,60	1,62	1,61	0,02	1,31
PUCA SHUN2	1/8	0,103	0,102	0,106	1,61	1,60	1,66			
Z. BLANCA1	1/8	0,48	0,473	0,463	6,93	6,84	6,69	6,59	0,23	4,32
Z. BLANCA2	1/8	0,449	0,432	0,43	6,52	6,28	6,25			

Tabla 14. Datos obtenidos en el análisis de azúcares totales

MUES TRA	ABSORBANCIA (540nm)			Volumen AFORO	Factor Dilución	AZÚ	AZÚ	AZÚ	Promedio %	D.E	CV
	R1	R2	R3			C RED. %	C RED. %	C RED. %			
A1	0,382	0,413	0,395	1,9954	5,17	2,86	3,08	2,95	3,00	0,084	2,79
A2	0,371	0,381	0,377	2,0018	5,52	2,99	3,07	3,03			
C1	0,461	0,478	0,47	1,9978	5,25	3,49	3,61	3,55	3,66	0,125	3,41
C2	0,51	0,512	0,521	1,9979	5,06	3,73	3,75	3,81			
P1	0,247	0,253	0,254	1,9993	5,21	4,74	4,85	4,87	4,80	0,107	2,24
P2	0,243	0,23	0,244	2,0096	5,36	4,85	4,60	4,87			
Z1	0,286	0,271	0,264	1,9971	5,16	21,58	20,49	19,98	20,98	0,656	3,13
Z2	0,279	0,282	0,272	2,0062	5,19	21,37	21,60	20,86			

*A1= Amaranto replica 1, A2=Amaranto replica 2, C1= Chía replica 1, C2=Chía replica 2, P1= papa P-SH replica 1, A2=papa P-SH replica 2, Z1= Zanahoria blanca replica 1, Z2= Zanahoria blanca replica 2

Tabla 15. Datos obtenidos en el análisis de almidón

M	ABSORBANCIA (540nm)			W harina S/A mg	Volumen de Aforo	ALM-1 %	ALM-2 %	ALM-3 %	Promedio %	D.E	CV
	R1	R1	R1								
A1	0,648	0,65	0,649	51,9	24,9992	45,13	45,27	45,20	46,49	0,89	1,92
A1	0,69	0,692	0,687	52,7	25,0032	47,29	47,43	47,09			
A2	0,653	0,66	0,658	51,3	25,0099	45,98	46,47	46,33			
A2	0,676	0,676	0,673	51,6	25,001	47,29	47,29	47,08			
C1	0,342	0,348	0,346	52,4	5,0011	3,35	3,41	3,39	3,37	0,09	2,58
C1	0,335	0,336	0,332	52,2	5,0008	3,29	3,30	3,27			
C2	0,337	0,321	0,314	50,7	5,0003	3,47	3,31	3,24			
C2	0,325	0,338	0,333	50,3	5,0072	3,38	3,51	3,46			
P1	0,881	0,872	0,875	50,9	25,0041	68,06	67,38	67,60	69,52	2,19	3,15
P1	0,863	0,86	0,886	50,6	25,0005	67,07	66,84	68,84			
P2	0,907	0,91	0,917	50,8	25,011	70,11	70,34	70,87			
P2	0,915	0,895	0,902	51	26,0067	73,25	71,66	72,22			
Z1	0,906	0,91	0,91	51,1	25,0036	67,32	67,62	67,62	67,38	1,14	1,69
Z1	0,936	0,931	0,931	51,3	25,0117	69,28	68,91	68,91			
Z2	0,92	0,918	0,916	50,5	25,0017	66,98	66,84	66,70			
Z2	0,909	0,9	0,904	50,3	25,003	66,46	65,81	66,10			

*A1= Amaranto replica 1, A2=Amaranto replica 2, C1= Chía replica 1, C2=Chía replica 2, P1= papa P-SH replica 1, A2=papa P-SH replica 2, Z1= Zanahoria blanca replica 1, Z2= Zanahoria blanca replica 2

ANEXO F

**DATOS OBTENIDOS PARA EL
ANÁLISIS DE HIERRO (Fe),
MAGNESIO (Mg) y CALCIO (Ca)**

ANEXO F-1. CONDICIONES DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Tabla 16. Condiciones instrumentales para la lectura de hierro, calcio y magnesio en el equipo de absorción atómica

Parámetros de análisis	Hierro (Fe)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)
Línea analítica	248,3 nm	422,7 nm	285,2 nm
Banda ancha	0,2 nm	0,4 nm	0,4 nm
Factor de filtro	1,0	1,0	1,0
Corriente de la lámpara	5,0 ma	5,0 ma	5,0 ma
Tiempo de integración	3,0 sec	3,0 sec	3,0 sec
Fondo/Ambiente	D2/SR	Ninguno/SR	D2/SR
Tipo de flama	Aire/Aceliteno	N ₂ O/Aceliteno	Aire/Aceliteno
Ajuste de llama	Azul oxidante	Rojo reductor	Azul oxidante
Sensibilidad	0,05 mg/L	0,01mg/L	0,003mg/L
Límite de detección	0,0046 mg/L	0,0042 mg/L	0,0018 mg/L
Intervalo lineal	0,03-8,00 mg/L	0,02-2,00 mg/L	0,007-0,4 mg/L

Tomado del manual de Usuario del Equipo de Absorción Atómica (PG, n.d.)

ANEXO F-2. DATOS DE PESOS DE CRISOLES Y MUESTRAS

Tabla 17. Datos obtenidos de pesos (W) de crisoles vacíos (Wc) y muestras para la determinación de minerales en harinas de Chía y Amaranto

Harina	Réplicas	W crisol (g)	W c + muestra (g)	W c + ceniza (g)	% cenizas	W muestra inicial sola (g)
CHÍA	1	24,8945	25,5918	24,9274	4,7%	0,6973
	2	26,0874	26,7801	26,1201	4,7%	0,6927
	3	25,9618	26,6623	25,9949	4,7%	0,7005
	4	24,7267	25,4263	24,7595	4,7%	0,6996
	5	23,6823	24,3838	23,7157	4,8%	0,7015
	6	25,3671	26,0615	25,4001	4,7%	0,6944
	7	24,9409	25,6409	24,9736	4,7%	0,7000
	8	25,3005	26,0009	25,3332	4,7%	0,7004
	9	25,3430	26,0431	25,3761	4,7%	0,7001
	10	25,1666	25,8602	25,1992	4,7%	0,6936
AMARANTO	11	25,5577	26,3580	25,5797	2,8%	0,8003
	12	25,6737	26,4738	25,6949	2,7%	0,8001
	13	24,8797	25,6795	24,9013	2,7%	0,7998
	14	24,8723	25,6729	24,8944	2,8%	0,8006
	15	25,0439	25,8437	25,0654	2,7%	0,7998
	16	25,8699	26,6693	25,8914	2,7%	0,7994
	17	25,1508	25,9511	25,1730	2,8%	0,8003
	18	24,5645	25,3650	24,5871	2,8%	0,8005
	19	24,5497	25,3493	24,5713	2,7%	0,7996
	20	25,1274	25,9277	25,1496	2,8%	0,8003

Tabla 18. Datos obtenidos de pesos (W) de crisoles vacíos (Wc) y muestras para la determinación de minerales en harinas de Zanahoria Blanca y Papa Puca-shungo

Harina	# Crisol	W crisol (g)	W c + muestra (g)	W c + ceniza (g)	% cenizas	W muestra inicial sola (g)
ZANAHORIA BLANCA	1	25,5567	26,2570	25,5802	3,4%	0,7003
	2	25,6728	26,3738	25,6962	3,3%	0,7010
	3	24,8794	25,5797	24,9025	3,3%	0,7003
	4	24,8714	25,5714	24,8952	3,4%	0,7000
	5	25,0430	25,7440	25,0659	3,3%	0,7010
	6	25,8697	26,5696	25,8928	3,3%	0,6999
	7	25,1500	25,8504	25,1732	3,3%	0,7004
	8	24,5637	25,2628	24,5868	3,3%	0,6991
	9	24,5488	25,2482	24,5723	3,4%	0,6994
	10	25,1275	25,8275	25,1500	3,2%	0,7000
*PAPA PUCA-SHUNGO	11	25,5654	26,2422	25,5881	3,4%	0,6768
	12	25,6799	26,3733	25,7045	3,5%	0,6934
	13	24,8919	25,6061	24,9154	3,3%	0,7142
	14	24,8836	25,5883	24,9096	3,7%	0,7047
	15	25,0517	25,7551	25,0763	3,5%	0,7034
	16	25,8767	26,5793	25,8980	3,0%	0,7026
	17	24,5644	25,2666	24,5901	3,7%	0,7022
	18	25,1496	25,8671	25,1764	3,7%	0,7175
	19	24,5582	25,2527	24,5826	3,5%	0,6945
	20	25,1309	25,8345	25,1551	3,4%	0,7036

*Datos de papa puca-shungo fueron obtenido por un estudio realizado por

(Balladares, 2018)

ANEXO F-2. CURVAS DE CALIBRADO PARA HIERRO, CALCIO Y MAGNESIO

Curvas de calibración típicas para cada uno de los micronutrientes estudiados elaboradas a partir de patrones acuosos.

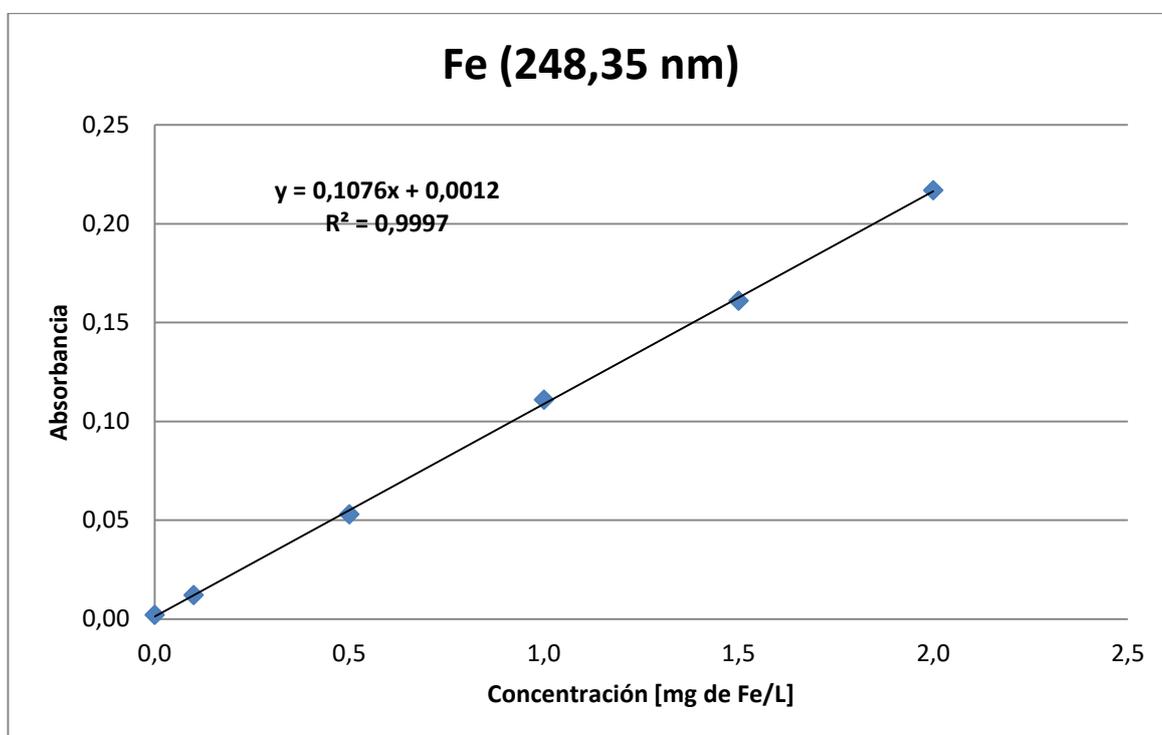


Figura 39. Curva de calibración de hierro a partir de patrones acuosos medido a 248,35 nm

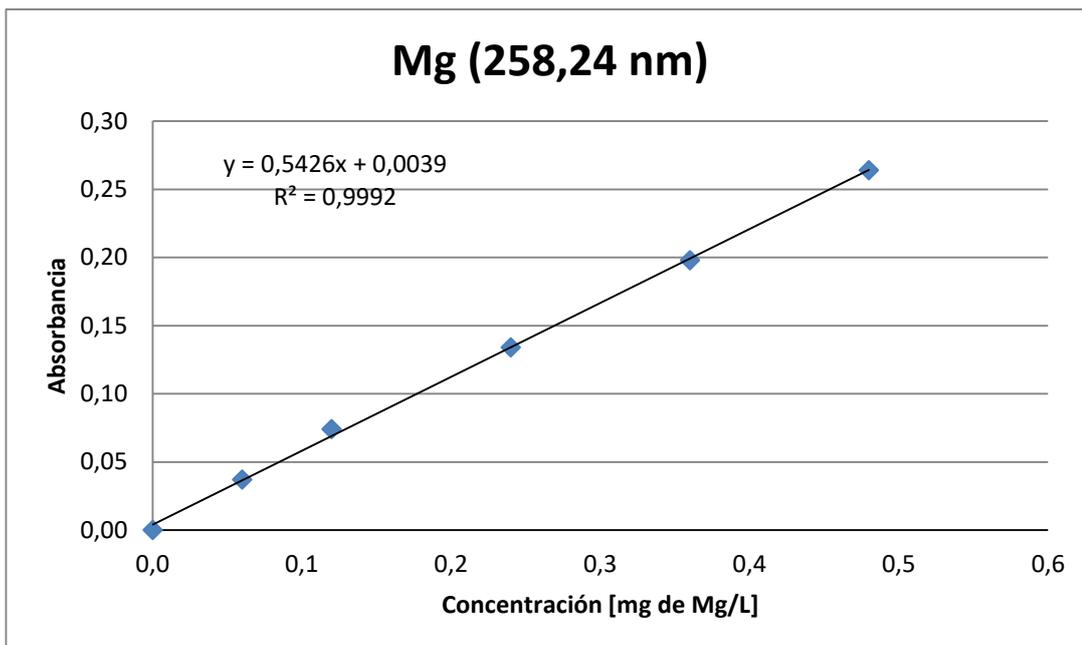


Figura 40. Curva de calibración de magnesio a partir de patrones acuosos medido a 285,24 nm

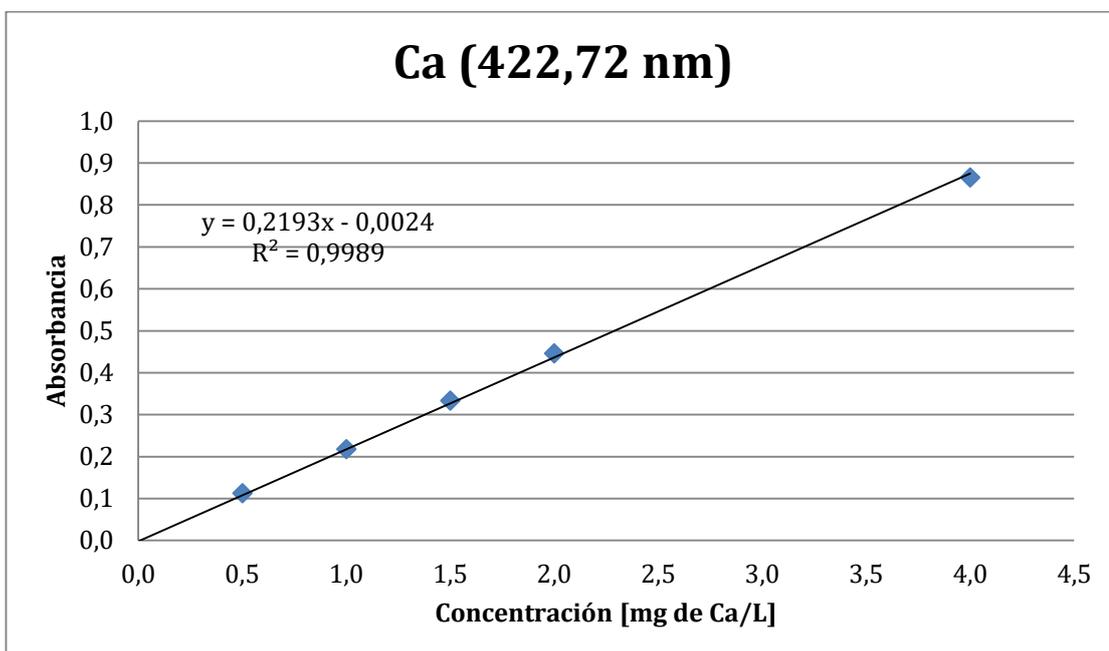


Figura 41. Curva de calibración de calcio a partir de patrones acuosos medido a 422,72 nm.

ANEXO F-3. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DETERMINACIÓN DE HIERRO (Fe)

Tabla 19. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Chía (*Salvia Hispanica L.*)

Muestras	Cantidad de harina (g)	[$\mu\text{g Fe/g}$]	[$\mu\text{g Ca/g}$]	[$\mu\text{g Mg/g}$]	% cenizas
1	0,6973	91,3	5595,9	4096,2	4,7%
2	0,6927	93,6	4804,0	4141,1	4,7%
3	0,7005	100,4	4332,5	3937,2	4,7%
4	0,6996	90,7	4595,6	4135,4	4,7%
5	0,7015	95,7	4695,5	4115,4	4,8%
6	0,6944	91,6	4662,5	4679,2	4,7%
7	0,7000	92,7	4834,3	4141,8	4,7%
8	0,7004	93,0	5426,4	4341,1	4,7%
9	0,7001	92,0	4721,0	4185,1	4,7%
10	0,6936	88,9	4943,8	4171,2	4,7%
Promedio					
		93,0	4861,2	4194,4	4,7%
SD					
		1,88	307,8	136,4	
RSD					
		2,02%	6,33%	3,25%	
Volumen de aforo (mL)					
		25	25	25	
Dilución (mL)					
		4/10	0,250/25	0,05/25	
Humedad					
		5,39%	5,39%	5,39%	

SD= Desviación Estándar

RSD=Desviación Estándar Relativa

Tabla 20. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Amaranto (*Amaranthus caudatus* L.)

Muestras	Cantidad de harina (g)	[$\mu\text{g Fe/g}$]	[$\mu\text{g Ca/g}$]	[$\mu\text{g Mg/g}$]	% cenizas
1	0,8003	54,3	1057,7	2579,3	2,8%
2	0,8001	52,5	1259,7	2564,6	2,7%
3	0,7998	51,6	1156,9	2396,6	2,7%
4	0,8006	55,2	1244,8	2931,1	2,8%
5	0,7998	53,0	1297,7	2665,3	2,7%
6	0,7994	50,7	1270,2	2720,4	2,7%
7	0,8003	51,2	1245,3	2955,2	2,8%
8	0,8005	51,5	1273,1	2816,4	2,8%
9	0,7996	52,8	1218,2	2689,0	2,7%
10	0,8003	54,1	1128,0	2847,8	2,8%
Promedio					
		52,7	1215,2	2716,6	2,7%
SD					
		1,00	54,4	117,9	
RSD					
		1,91%	4,48%	4,34%	
Volumen de aforo (mL)					
		25	25	25	
Dilución (mL)					
		5/10	0,750/25	0,05/25	
Humedad					
		10,81%	10,81%	10,81%	

SD= Desviación Estándar

RSD=Desviación Estándar Relativa

Tabla 21. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de papa Puca-shungo (*Solanum tuberosum*)

Muestras	Cantidad de harina (g)	[$\mu\text{g Fe/g}$]	[$\mu\text{g Ca/g}$]	[$\mu\text{g Mg/g}$]	% cenizas
1	0,6768	90,3	359,3	1011,7	3,4%
2	0,6934	79,9	288,9	1571,0	3,5%
3	0,7142	105,4	333,5	1445,4	3,3%
4	0,7047	93,7	302,6	1036,4	3,7%
5	0,7034	82,5	291,8	973,5	3,5%
6	0,7026	91,4	358,0	1169,2	3,0%
7	0,7022	74,5	325,0	1048,2	3,7%
8	0,7175	79,0	262,5	843,2	3,7%
9	0,6945	79,8	275,5	977,7	3,5%
10	0,7036	81,2	298,8	924,6	3,4%
Promedio					
		85,8	309,6	1100,1	3,47%
SD					
		8,7	17,8	160,7	
RSD					
		10,1%	5,76%	14,61%	
Volumen de aforo (mL)					
		25 mL	25 mL	25 mL	
Dilución (mL)					
		6/10	1/10	0,2/25	
Humedad					
		11,64%	11,64%	11,64%	

*SD= Desviación Estándar, RSD=Desviación Estándar Relativa, *Datos de papa puca-shungo con cáscara que fueron obtenidos en un estudio realizado por Balladares, (2018)

Tabla 22. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de Zanahoria blanca (*Arracacha xanthorrhiza* Bancroft.)

Muestras	Cantidad de harina (g)	[$\mu\text{g Fe/g}$]	[$\mu\text{g Ca/g}$]	[$\mu\text{g Mg/g}$]	% cenizas
1	0,7003	22,1	1542,1	575,9	3,4%
2	0,7010	21,4	1575,2	571,0	3,3%
3	0,7003	19,9	1539,5	584,4	3,3%
4	0,7000	21,8	1593,4	588,9	3,4%
5	0,7010	17,9	1620,5	598,0	3,3%
6	0,6999	17,6	1575,0	648,9	3,3%
7	0,7004	23,7	1581,9	619,9	3,3%
8	0,6991	19,0	1424,7	555,4	3,3%
9	0,6994	21,4	1549,5	608,0	3,4%
10	0,7000	20,0	1617,4	584,6	3,2%
Promedio					
		20,5	1561,9	593,5	3,3%
SD					
		1,57	36,1	18,6	
RSD					
		7,67%	2,31%	3,14%	
Volumen de aforo (mL)					
		25	25	25	
Dilución (mL)					
		Sin Dilución	1/25	0,35/25	
Humedad					
		8,97%	8,97%	8,97%	

SD= Desviación Estándar

RSD=Desviación Estándar Relativa

ANEXO G

DETERMINACIÓN DE LA

ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS

UTILIZADAS

Determinación de las actividades enzimáticas

Actividad de la enzima α -amilasa

La actividad de la enzima α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis*, Termamyl 120 L de Novoenzymes (Bagsværd, Dinamarca) se determinó luego de diluirla 1/10 con agua destilada y filtrarla a través de una columna de desalado PD 10 que contiene Sephadex G-25 (GE healthcare Life Sciences) para remover los estabilizantes. El proceso se realizó de acuerdo a la Hoja técnica del fabricante (aplicar 2,5 mL de muestra y una vez distribuida en la columna diluirla con 3,5 mL de agua o tampón de actividad).

La determinación de la actividad se realizó midiendo la velocidad de hidrólisis de una solución acuosa al 1% de almidón soluble, en modo cinético, a través de la cuantificación de los azúcares reductores formados, expresados como maltosa. El tiempo total de ensayo fue de 5 min y la medición de azúcares reductores se realizó a intervalos de 1 min (1, 2, 3, 4 y 5 min). La unidad de actividad se definió como la cantidad de enzima que cataliza la formación de una micromol de azúcares reductores, expresados como maltosa por minuto a 37 °C y pH 5,6.

Curva estándar de maltosa

La curva estándar de maltosa se preparó a partir de una solución madre con una concentración de 4 mg mL⁻¹ de la cual se realizaron las diluciones que constan en la Tabla

Tabla 23. Datos para la elaboración de la curva de la Maltosa

V. Maltosa (mL)	W. maltosa (g)	V. Agua (mL)	W. total (g)	FD	W. alícuota (g)	[Maltosa] (mg/mL)	Absorbancia (540nm)
0,100	0,0985	0,90	1,0000	10,15	0,1962	0,39	0,103
0,200	0,2011	0,80	0,9950	4,95	0,2049	0,84	0,286
0,300	0,2995	0,70	0,9785	3,27	0,196	1,21	0,409
0,400	0,4013	0,60	0,9913	2,47	0,2043	1,67	0,535
0,500	0,5038	0,50	0,9993	1,98	0,2046	2,09	0,692
0,600	0,5899	0,40	0,9924	1,68	0,2017	2,43	0,845
0,700	0,6888	0,30	0,9902	1,44	0,2007	2,82	0,950
0,800	0,7904	0,20	0,9882	1,25	0,2001	3,24	1,143

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

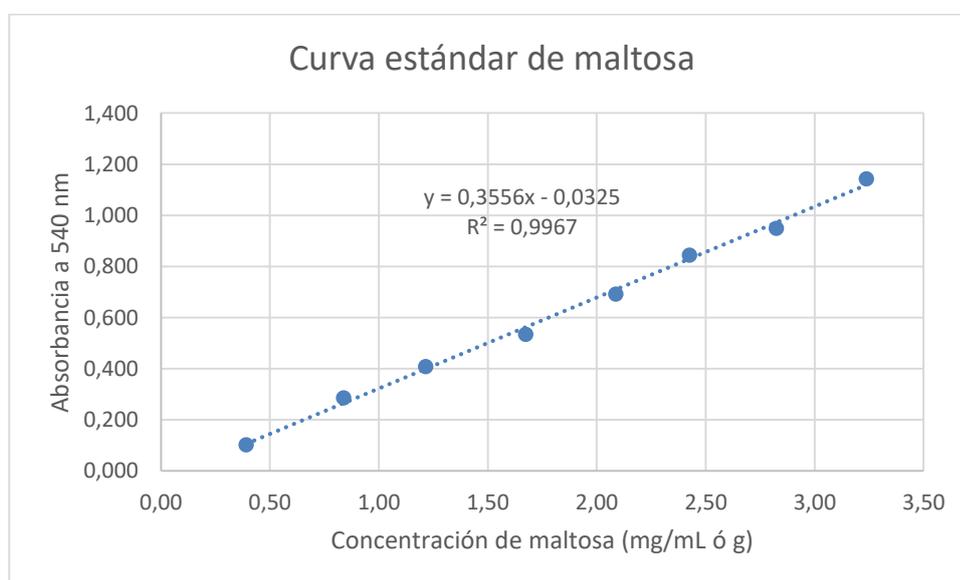


Figura 42. Curva estándar de maltosa

Actividad de la enzima Amiloglucosidasa

Se utilizó para esta prueba amiloglucosidasa AMG 300 L de *Aspergillus niger* de Novoenzymes. La actividad se determinó a partir de la velocidad de formación de producto (glucosa) utilizando DNS y una curva estándar de glucosa.

Preparación de la enzima: la enzima se diluyó en una relación de 1:500 con tampón acetato de sodio 0,1 M de pH 4,5 (tampón de actividad).

Preparación del sustrato (solución de almidón al 1% en tampón de actividad): se pesó 0,1 g de almidón soluble (MALLINCKRODT) en un vaso de precipitación de 50 mL, al que se agregó 10 mL del tampón de actividad, bajo agitación (a 400 rpm), en una en una plancha de calentamiento con agitación magnética (VWR); simultáneamente se calentó la solución hasta ebullición y se dejó hervir por 2 min para una vez fría aforar a 10 mL con agua destilada.

Cuantificación de la actividad de la glucoamilasa: se determinó a través de la medición de la velocidad de formación de glucosa durante 5 min, empleando modo cinético, para esto se colocó 200 μ L de la enzima diluida en tubos de vidrio, se adicionó 200 μ L del sustrato (almidón al 1%) y se detuvo la reacción con 400 μ L de DNS luego de 1, 2, 3, 4 y 5 min de hidrólisis. Se preparó un blanco con 200 μ L de la enzima inactivada con 400 μ L de DNS a la que se agregó 200 μ L de sustrato. Los tubos con la mezcla de reacción fueron hervidos por 5 min y diluidos con 4 mL de agua destilada para determinar las absorbancias respectivas a 540 nm.

La unidad de actividad se definió como la cantidad de enzima que libera 1 μmol de glucosa por minuto a pH 4,5 y 20 °C.

Los resultados de progreso de la reacción durante 5 min (Figura 24) muestran respuestas lineales en los rangos estudiados como se muestra en la tabla

Tabla 24. Datos de absorbancia obtenidos para la hidrólisis de almidón soluble catalizada por amilogucosidasa durante 5 min

Tiempo (min)	Absorbancia (540nm)	Concentración Glucosa [mg/mL]
0	0	0
1	0,231	0,429
2	0,481	0,874
3	0,706	1,275
4	0,893	1,608
5	1,027	1,846

Fuente: Laboratorio BIO-PROPEPTI

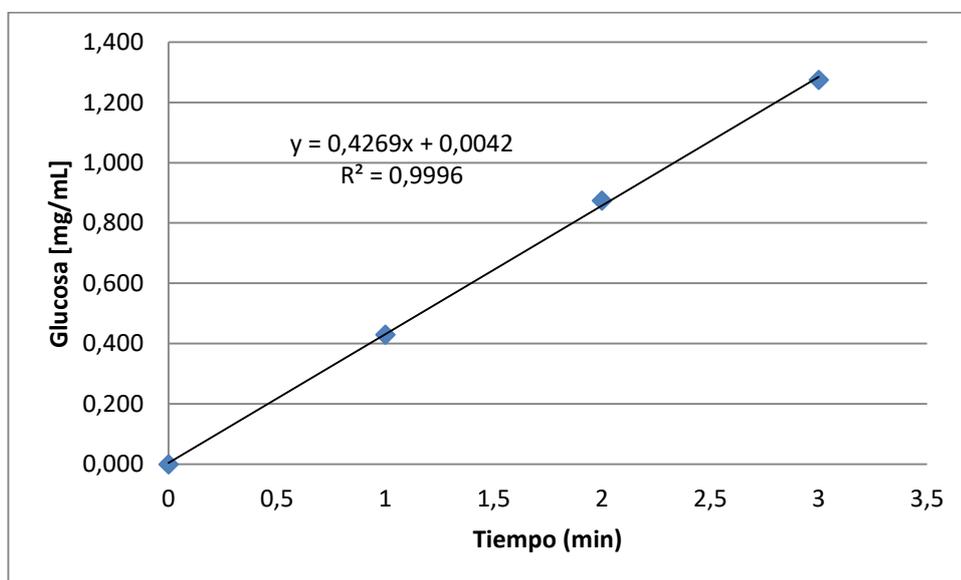


Figura 43. Curva de progreso de la reacción de hidrólisis de almidón soluble catalizada por amilogucosidasa (*Aspergillus niger*) con dilución 1:500.

Actividad de la enzima Invertasa

Extracción de la invertasa

Disuelva con agitación moderada, 14 g (2 sobres) de levadura en polvo en 50 mL solución de bicarbonato de sodio en un frasco con tapa de 100 mL, mantenga la agitación por 1 hora e incube en un baño termostático a 35 °C por 15 h. A continuación, destape el frasco con cuidado, elimine los gases formados, refrigere la suspensión de levadura en un baño con hielo y viértala en cuatro tubos de centrifuga de 15 mL, centrifugue por 30 min a la graduación 8,5 en la centrífuga de tapa anaranjada de Análisis de Alimentos. Recupere el sobrenadante y vuelva a centrifugar por 30 min en tubos eppendorf de 2 mL colocando 1,8 mL en cada tubo. Recupere el sobrenadante, mezcle bien y repártalo en tubos eppendorf en porciones de 1,5 mL, separe una porción para determinar el contenido de proteínas por el método de biuret y la actividad del extracto.

Cuantificación de la actividad del extracto a 20 °C

Defina la dilución de enzima a preparar mediante una prueba preliminar a tiempo único (1 min de reacción) mezclando volúmenes iguales (0,150 mL) de enzima (extracto) y de sustrato y deteniendo la reacción con solución de DNS (0,300 mL). La prueba definitiva de actividad debe realizar en modo cinético con tiempos que van de 1 a 5 min. La Unidad de actividad (UI) se define como la cantidad de enzima que cataliza la hidrólisis de 1 μmol de enzima a pH 4,8 y 20 °C.

ANEXO H

Preparación de la solución de DNS

Para preparar 100 de solución

- Disolver (bajo agitación magnética en una plancha con calentamiento) 1 g de ácido 3,5-Dinitrisalicílico al 98 % en 40 mL de agua destilada mantenida a 40 °C.
- Agregar 20 mL de hidróxido de sodio 2 M y a continuación (poco a poco) 30 g de tartrato de sodio y potasio.
- Enfriar y aforar a 100 mL con agua destilada.