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

Tema: Determinación del contenido nutricional en harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul (*Cajanus cajan*) y zarandaja (*Lablad purpureus*) como fuentes de carbohidratos y minerales.

Trabajo de Titulación, modalidad Proyectos de Investigación, previa la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, 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 Canje de Deuda Ecuador-España** "Fortalecimiento de la unidad operativa de investigación en tecnología de alimentos (UOITA) para la investigación tecnología e innovación en el área de alimentos, con el fin de promover la generación y el desarrollo de empresas agroindustriales en la Zona 3 del país; y monitorear el contenido de metales pesados en los cultivos afectados por las cenizas provenientes de las erupciones volcánicas del Tungurahua. (FITA-UOITA)" Resolución HCU **0939-CU-P-2016**.

Proyecto: **"VALORIZACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE ALIMENTOS TRADICIONALES DE LA POBLACIÓN ECUATORIANA"** aprobado por el Honorable Consejo Universitario y financiado por la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE) de la Universidad Técnica de Ambato. Resolución **0248-CU-P-2017**.

Autor: Nelson Adolfo Ruiz Aguilar
Tutor: Dr. Jorge Alexander Briceño Carrasquel
Ambato – Ecuador
Enero - 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Jorge Alexander Briceño Carrasquel

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, 2 de enero de 2019

Dr. Jorge Alexander Briceño Carrasquel
C.I. 175840407-1
TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Ruiz Aguilar Nelson Adolfo, manifiesto que los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, previamente a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas.



Ruiz Aguilar Nelson Adolfo

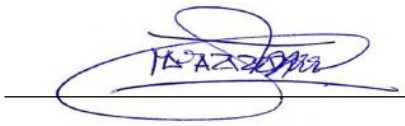
CI: 180437862-6

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL 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



Mg. César Augusto German Tomalá

C.I. 180116710-5



PhD. Dayana Cristina Morales Acosta

C.I. 180413557-0

Ambato, 22 de enero del 2019

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que considere el presente Trabajo de Titulación o parte de él, como 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 Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo su reproducción parcial o total 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.



Ruiz Aguilar Nelson Adolfo
CI: 180437862-6
AUTOR

DEDICATORIA

"La gloria no consiste en no caer nunca, sino más bien en levantarse las veces que sea necesario" Mario Benedetti.

Su constancia, sacrificio y apoyo incondicional me permitieron llegar lejos, me ayudaron a forjarme como un hombre de bien, sembrando en mí sus valores e inculcándome siempre su amor infinito, los amo con todo mi corazón *Nelson Ruiz y Nelly Aguilar.* Esta es una meta que la cumplimos juntos.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I 1

MARCO TEÓRICO 1

1.1 Antecedentes investigativos 1

1.2 OBJETIVOS 4

1.2.1 Objetivo General 4

1.2.2 Objetivos Específicos 4

1.1 HIPÓTESIS 4

1.1.1 Hipótesis Nula 4

1.1.2 Hipótesis Alternativa 5

CAPÍTULO II 6

METODOLOGÍA 6

2.1 MATERIALES 6

2.1.1 Materia prima 6

2.1.2 Material de laboratorio 6

2.1.3 Equipos 6

2.1.4 Reactivos 7

2.2 METODOLOGÍA 8

2.2.1 Cuantificación de carbohidratos (azúcares y almidones) 8

2.2.2 Determinación de minerales, Ca (calcio), Fe (hierro), Mg (magnesio) 13

CAPÍTULO III 17

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 17

3.1 DESENGRASADO DE HARINAS 17

3.2 CUANTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS (AZÚCARES REDUCTORES, TOTALES Y ALMIDÓN) MEDIANTE EL MÉTODO DEL ÁCIDO 3,5 DINITROSALICÍLICO (DNS) 17

3.3 ANALISIS DE HIERRO (Fe), CALCIO (Ca) y MAGNESIO (Mg) EN LAS HARINAS 20

CAPÍTULO IV 23
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 23
4.1 CONCLUSIONES 23
4.2 RECOMENDACIONES 24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones instrumentales para la lectura de hierro, calcio y magnesio en el equipo de absorción atómica 15
Tabla 2. Contenido de grasa en las harinas estudiadas 17
Tabla 3. Contenido de azúcares reductores, sacarosa, azúcares totales y almidón 18
Tabla 4. Concentración de calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg) 20
Tabla 5. Tabla de composición de alimentos TCA de las harinas de chocho, gandul y zarandaja 22
Tabla 6. Datos de la cuantificación de grasa de las harinas estudiadas 30
Tabla 7. Datos para la elaboración de la curva estándar de glucosa 31
Tabla 8. Datos obtenidos para la extracción de azúcares 32
Tabla 9. Datos obtenidos para el análisis de azúcares reductores 33
Tabla 10. Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores luego de la hidrólisis con invertasa 34
Tabla 11. Datos obtenidos en el análisis de azúcares totales 35
Tabla 12. Datos obtenidos en el análisis de almidón 36
Tabla 13. Condiciones instrumentales del equipo para cada elemento 38
Tabla 14. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de chocho 41
Tabla 15. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de gandul verde 41
Tabla 16. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de gandul maduro 42
Tabla 17. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de zarandaja proveedor 1 42

Tabla 18. Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de zarandaja Proveedor 2 43
Tabla 19. Datos obtenidos de pesos de crisoles, cenizas y concentración de micronutrientes 44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva de glucosa 31
Figura 2. Curva de calibración de calcio a partir de patrones acuosos medido a 422,72 nm 39
Figura 3. Curva de calibración de hierro a partir de patrones acuosos medido a 248,35 nm 39
Figura 4. Curva de calibración de magnesio a partir de patrones acuosos medido a 285,24 nm 40

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el contenido de carbohidratos y los elementos minerales calcio, hierro y magnesio en harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul (*Cajanus cajan*) y zarandaja (*Lablad purpureus*), los análisis de carbohidratos y minerales que se emplearon en esta investigación fueron realizados con métodos de alta sensibilidad como son la espectrofotometría de absorción atómica para minerales y del ácido 3,5 dinitrosalicílico DNS para carbohidratos. Para la cuantificación de carbohidratos se utilizaron métodos enzimáticos, extracción acuosa y extracción en alcohol; y en la cuantificación de metales se utilizó metodologías estándar descritas en la AOAC. Finalmente se elaboró una tabla de composición de alimentos TCA de las harinas propuestas, la misma que tiene la concentración de azúcares reductores, azúcares totales, almidón, hierro, calcio y magnesio. La harina que presentó la mayor concentración de carbohidratos fue zarandaja con 45%, mientras que la cantidad de elementos minerales fueron diferentes para cada harina; la mayor concentración de calcio fue en gandul verde con 6379,2 mg/Kg y para hierro y magnesio fue en chocho con 129,1 mg/Kg y 2586,8 mg/Kg respectivamente.

Palabras clave: composición de alimentos, contenido nutricional, leguminosas, *Lupinus mutabilis*, *Cajanus cajan*, *Lablad purpureus*.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the content of carbohydrates and calcium, iron and magnesium mineral elements in lupine *(Lupinus mutabilis)*, gandul *(Cajanus cajan)* and zarandaja *(Lablad purpureus)* flours, carbohydrates and minerals analyzes that were used in this research were carried out with high sensitivity methods such as atomic absorption spectrophotometry for minerals and 3,5 dinitrosalicylic acid DNS for carbohydrates. For the quantification of carbohydrates were used enzymatic methods, aqueous extraction and alcohol extraction; and for the quantification of metals were used standard methodologies described in the AOAC. Finally, a table of food composition TCA of the proposed flours was prepared, which has the concentration of reducing sugars, total sugars, starch, iron, calcium and magnesium. The flour that presented the highest concentration of carbohydrates was zarandaja with 45%, while the amount of mineral elements were different for each meal; the highest calcium concentration was in green gandul with 6379.2 mg / kg and for iron and magnesium it was in lupine with 129.1 mg / kg and 2586.8 mg / kg respectively.

Key words: composition of food, nutritional content, legumes, *Lupinus mutabilis*, *Cajanus cajan*, *Lablad purpureus*.

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

Las tablas de composición de alimentos TCA son el resultado del estudio químico de un alimento específico que presentan valores analíticos de sus macronutrientes y el aporte energético que tiene **(Cervera, Clapés y Rigolfas, 2001).**

Las TCA son muy utilizadas por profesionales afines a la alimentación, nutrición, planificación alimentaria nutricional, entre otros. Además, permiten una evaluación de la ingesta de nutrientes, elaboración de dietas alimenticias, formulación de etiquetado nutricional, elaboración de hojas de balance, planificación de intervenciones de seguridad alimentaria o nutricional y también para poner a disposición del público información concreta del valor nutritivo de los alimentos que habitualmente se consumen **(Menchú y Méndez, 2007).**

Ortiz-Moncada y Domenech, (2016), realizaron una investigación de las TCA existentes en el Ecuador, las mismas que están desactualizadas como la "Tabla de composición química de los alimentos ecuatorianos" que data del año 1965, además realizaron una búsqueda en fuentes secundarias como el Ministerio de Salud Pública (MSP) y en el Ministerio de Inclusión Económica y Social (MIES) las mismas que no presentaron TCA en sus páginas web.

Elaborar una TCA demanda un proceso de compilación, plan de muestreo, manejo adecuado de la muestra, método analítico, descripción del alimento, calidad de las fuentes bibliográficas y procedimientos para la estimación de valores. Los análisis químicos ayudan a producir datos y a verificar su exactitud **(Pérez Grana, 2013).**
Por tal razón, realizar los análisis a través de metodologías confiables y reproducibles en las harinas de chocho, gandul y zarandaja, ayudarán a tener información actualizada, real y fiable de su contenido nutritivo (carbohidratos y minerales).

Los carbohidratos son los más utilizados en la dieta alimenticia del ser humano, se originan a partir de la glucosa que proviene de la fotosíntesis, se clasifican en: digeribles, que son los que proporcionan energía al organismo y no digeribles (fibra dietética y almidones resistentes) que ayudan a mejorar el proceso de digestión. Los carbohidratos que están presentes en las plantas son la glucosa, fructosa, almidón y celulosa. La funcionalidad y las características dependen de su estructura química, las mismas que también influyen en las características sensoriales que presentan los diferentes alimentos que los contienen **(Godínez y Gutiérrez, 2017).**

Para la cuantificación de carbohidratos se emplean análisis específicos, ya que la mayoría de investigaciones y TCA reportan en sus tablas la cantidad de carbohidratos por diferencia. Las enzimas que se utilizan para la cuantificación de almidón son: α-amilasa termoestable *Bacillus lequimiformis,* que es una endohidrolasa que rompe los enlaces α(1-4) formando glucano (glucosas unidas de distinta longitud), maltosa y dextrinas **(Sarmento, 2012)**, amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* que es una enzima amilolítica que degrada las dextrinas, maltosa y glucanos **(Henao, Franco-Correa y Marín, 2006)** y para la cuantificación de sacarosa se utiliza invertasa de *Saccharomyces Cerevisiae*, esta enzima hidroliza sacarosa produciendo monosacáridos de D-glucosa y D-Fructosa que posteriormente se isomerisa a D-glucosa **(Timerman., 2012)**. Para la cuantificación de azúcares reductores se emplea el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico DNS descrito por **Miller, (1959)**.

Los minerales que regularmente están presentes en los alimentos son 36 y 21 de estos son esenciales para el correcto funcionamiento del organismo **(Dergal y Cejudo, 2006)**. Los minerales cumplen numerosas e importantes funciones para el correcto funcionamiento de todos los órganos de nuestro cuerpo, los principales minerales que están presentes en los alimentos son hierro (Fe), calcio (Ca) y magnesio; el hierro (Fe) que es mineral cuyas funciones son transportar oxígeno, participa en la respiración celular, destrucción de peróxido de hidrógeno y síntesis de ADN, el calcio (Ca) cuya función es básicamente estructural, además participa en la actividad muscular y nerviosa y el magnesio (Mg) que está relacionado con la respuesta inmune, el metabolismo, la función cardiaca y la actividad nerviosa, estos minerales

están presentes en alimentos de origen animal, en vegetales verdes, nueces, frutos secos, leguminosas, legumbres frescas oleaginosas y granos integrales **(Álvarez, 2016; Baca-Ibáñez, Ríos-Paico, y Rojas-Naccha, 2016).**

Para el análisis de minerales se emplea la método de espectrofotometría de absorción atómica, debido su sensibilidad, selectividad y a la capacidad de ajustarse al análisis directo con una mínima preparación de muestra **(Butcher y Sneddon, 1998)**.

Las harinas de leguminosas ha estudiarse son chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul (*Cajanus cajan*) y zarandaja (*Lablad purpureus*).

El chocho, es una leguminosa que proviene de los Andes Sudamericanos, sus condiciones óptimas de crecimiento son entre 2,800 y 3,600 m.s.n.m. **(Castañeda et al., 2008)**, esta leguminosa se destaca por su alta adaptabilidad a cambios climáticos como sequías y heladas, además posee una alta resistencia a plagas **(Ortega-David et al., 2010)**. En Ecuador el cultivo del chocho se localiza en la región Sierra en las provincias de Tungurahua, Chimborazo, Cotopaxi, Pichincha, Bolívar, Carchi e Imbabura **(Villacrés, Rubio, Egas y Segovia, 2006)**. El chocho, es conocido por ser rico en nutrientes tales como proteínas y carbohidratos ofreciendo así una excelente alternativa nutricional para el consumo humano y animal. Además, contiene elevados niveles de macronutrientes, como el calcio, hierro y magnesio **(Castañeda et al., 2002).**

El gandul, es una leguminosa originaria de la India y África, tiene la capacidad de adaptarse en países tropicales y subtropicales **(Arias, Barrera y Rodríguez, 2010),** es una planta de tierras bajas y vive en climas semisecos, en Ecuador el cultivo se localiza en la región Costa , la altura máxima que puede ser plantada es de 770 m.s.n.m. Además es muy tolerante al calor, las semillas tienen un alto contenido de carbohidratos y micronutrientes **(Vásquez, 2017)**.

La Zarandaja es una leguminosa originaria de Asia y África, crece en las zonas tropicales y subtropicales de Australia y se encuentra en algunos países como Colombia, Panamá y Ecuador **(Pengelly y Maass, 2001)**. Esta leguminosa tiene un

alto contenido de proteína, carbohidratos, fibra y micronuntrientes, lo que lo hace apto para la alimentación humana y animal.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- Evaluar el contenido de carbohidratos y los elementos minerales calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg) en harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul maduro y verde (*Cajanus cajan*) y zarandaja (*Lablab purpureus*) proveedor 1, (P1) y proveedor 2, (P2).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Adecuar una metodología para la cuantificación del contenido de carbohidratos (azúcares reductores, azúcares totales y almidón).
- Cuantificar el porcentaje de carbohidratos: azúcares reductores, azúcares totales y almidón.
- Determinar el contenido de los elementos minerales calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg).
- Proponer una tabla de composición de alimentos (carbohidratos y minerales) de las harinas seleccionadas.

1.1 HIPÓTESIS

1.1.1 Hipótesis Nula

- **Ho1:** El contenido de carbohidratos no cambia en las diferentes harinas
- **Ho2:** La cantidad de los minerales hierro (Fe), calcio (Ca) y magnesio (Mg) no varía en las diferentes matrices

1.1.2 Hipótesis Alternativa

- **Ha1:** El contenido de carbohidratos cambia en las diferentes harinas
- **Ha2:** La cantidad de los minerales hierro (Fe), calcio (Ca) y magnesio (Mg) varía en las diferentes matrices

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES

2.1.1 Materia prima

Para la ejecución de este trabajo de investigación se consideraron 5 matrices del proyecto REDU: gandul verde y maduro (ESPOL), chocho desengrasado (EPN) y zarandaja (Proveedor 1 y Proveedor 2) (UTPL). Todas las matrices fueron proporcionadas directamente ya transformadas en harina.

2.1.2 Material de laboratorio

- Balones de aforo (5, 10, 25 y 50 mL)
- Baño termorregulado
- Crisoles de porcelana de 30 mL
- Dedales de extracción AQUALAB (Diámetro interno 33 mm, longitud externa 80 mm)
- Filtros de 0,45 µm AGILENT CAPTIVA, ECONO FILTER
- Matraces de 25 mL
- Mortero
- Pipetas, micropipetas de volumen fijo y volumen variable
- Probetas (10, 100 mL)
- Termómetro de 10 a 110 ºC
- Tiras de pH MACHEREY-NAGEL
- Tubos bacteriológicos
- Tubos de centrífuga (15 y 50 mL)
- Tubos EPPENDORF (2 mL)
- Vasos de precipitación (50, 250 y 500 mL)

2.1.3 Equipos

- Balanza analítica METTLER TOLEDO XPE204
- Balanza infrarroja para humedad METTLER TOLEDO-HX204

- Cámara de extracción de gases NOVATECH-CE120BA
- Centrífuga EPPEDORF 5702
- Compresor de aire
- Congelador de ultra baja temperatura PANASONIC MDF U33V
- Espectrofotómetro GENESIS TM,20 THERMO SCIENTIFIC
- Espectrómetro de absorción atómica PG INSTRUMENTS modelo AA500
- Estufa (VWR) con regulación de temperatura
- Extractor de grasas con recuperación VELP SCIENTIFICA SER 148
- Micro incubador PROVOCELL ESCO
- Microcentrífuga LABNET SPECTRAFUGE 24D
- Mufla NABER THERM 30-3000 ºC
- pH-metro METTLER TOLEDO SEVEN EASY
- Plancha de calentamiento con agitación magnética VWR
- Secador de bandejas con corriente convectiva de aire caliente CD160 GANDER
- Sistema de ultrafiltración THERMO SCIENTIFIC
- Vórtex VWR

2.1.4 Reactivos

- Ácido 3,5-dinitrosalicílico 98 % ACROS ORGANICS
- Ácido clorhídrico concentrado fumante 37 %. p/p EMSURE
- Ácido nítrico concentrado grado analítico 68-70 % FISHER CHIMICAL
- Agua purificada de un sistema Milli Q (Thermo Scientific, Inglaterra, UK)
- Cloruro de lantano al 1 % p/v
- Enzimas: α-amilasa termoestable *Bacillus lequimiformis* (Termamyl 120 L) y Amiloglucosidasa 300 L de *Aspergillus niger* de Novo, Nordisk
- Invertasa *Saccharomices Cereviciae*
- Estándares monoelementales para absorción atómica de calcio, hierro y magnesio cada uno de 1000 $mg \cdot L^{-1}$ en HNO_3 5 %, AccuStandard, New Haven, USA.
- Etanol 95 %. EMSURE
- Gas: Aire/Acetileno AA 2,5 al 99,5 % de Linde, Ecuador
- Gas: Aire/Óxido nitroso UAP grado 5,0 de Linde, Ecuador

- Glucosa grado analítico
- Hidróxido de sodio 99.9% EMSURE
- n-Hexano grado analítico EMSURE
- Soluciones de Cárrez I (solución de hexacianoferrato II de potasio al 15 % en agua) y Cárrez II (solución de sulfato de zinc heptahidratado al 30% en agua).
- Tampón de acetato de sodio-ácido acético pH 4,5
- Tartrato de sodio y potasio 99.9% MERCK

2.2 METODOLOGÍA

2.2.1 Cuantificación de carbohidratos (azúcares y almidones)

Se realizó aplicando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico DNS descrito por **Miller, (1959)** con modificaciones indicadas en el paso 2.2.1.6. Para estimar la concentración de azúcares de las muestras problema se utilizó una curva estándar de glucosa cuya concentración estuvo en el intervalo de 0,1 – 2,0 mg. mL^{-1}. En el ANEXO B se muestra una curva típica.

2.2.1.1 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

2.2.1.1.1 Extracción de grasa

Se realizó la extracción de grasa en todas las muestras para evitar interferencias en las lecturas de absorbancias por causa de la turbidez que genera en las determinaciones de azúcares y almidones.

Se aplicó el método 2003.06 de la **AOAC, (2006),** en un extractor de grasas con recuperación VELP SCIENTIFICA SER 148**.** Para ello, se realizó por 4 horas en modo inmersión seguido de 2 horas en modo lavado empleando hexano como solvente y a una temperatura del plato de 150 °C. Fueron usados dedales de extracción AQUALAB y vasos de extracción con núcleos de ebullición los mismos que fueron previamente tarados en una estufa por 24 horas a 70 ºC, posteriormente los dedales se enfriaron en frascos plásticos cerrados (para evitar que absorban

humedad) su peso se registró por diferencia y los vasos de extracción se enfriaron en un desecador para ser posteriormente pesados.

Se utilizó 2,5 g de cada muestra, pesada por diferencia e introducida en el dedal de extracción, concluido el tiempo de extracción se enfrió y se retiró el dedal con la muestra desengrasada, luego se secó a 70 ºC por 12 horas para eliminar los residuos de solvente y se pesó por diferencia para posteriormente ser empleado en la extracción de azúcares, apartado 2.2.1.1.2.

2.2.1.1.2 Extracción de azúcares solubles en alcohol

La extracción de azúcares solubles en alcohol descrito por **Adrian et al. (2000),** se realizó en el equipo extractor de grasas con recuperación VELP SCIENTIFICA SER 148**.** Se utilizó las muestras desengrasadas en los mismos dedales utilizados en la extracción de grasa, apartado 2.2.1.1.1.

En los vasos de extracción se colocó aproximadamente 75 mL de etanol al 80 %. Se realizó la extracción por 4 horas, a una temperatura del plato de 140 ºC, en modo lavado para evitar que la muestra contenida en el dedal se gelatinice.

Terminada la extracción se recuperó la solución de etanol en el mismo equipo, dejando en los vasos de extracción aproximadamente 5 mL de la solución de alcohol con azúcares, se retiraron los dedales y los vasos para posteriormente llevarlos a evaporar el alcohol impregnado en una estufa a 50 ºC. La muestra acuosa de azúcares de los vasos de extracción se aforó a 10 mL y se almacenó a -80 ºC hasta ser utilizada en la cuantificación de azúcares. La muestra sólida ya sin azúcares contenida en los dedales de extracción se pesó por diferencia y se trituró con la ayuda de un mortero para ser almacenada en fundas plásticas selladas y guardadas a 5 ºC, esta muestra sólida se utilizó para la cuantificación de almidón, apartado 2.2.1.5.

2.2.1.1.3 Preparación de la muestra de azúcares previo al análisis de azúcares totales e hidrólisis con invertasa

Las soluciones de azúcar preparadas en el apartado 2.2.1.1.2 fueron descongeladas a temperatura ambiente, luego se colocó 1,8 mL en tubos EPPENDORF de 2 mL y finalmente se centrifugó a 15600 G por 30 min en una microcentrífuga EPPENDORF MODEL 5702. El sobrenadante fue empleado para la cuantificación de azúcares totales y la hidrólisis con invertasa (apartado 2.2.1.4).

2.2.1.2 Cuantificación de azúcares reductores solubles en agua

Se realizó una extracción de azúcares reductores en agua, para lo cual se pesó de 0,1g-0,2g de la harina desengrasada en el apartado 2.2.1.1.1 y se colocó en un tubo de centrífuga de 15 mL, seguidamente se aforó con agua a 10 mL, se dejó en agitación por 1 hora, finalmente se centrifugó a 3000 G por 15 minutos **(Mensah, Oduro, Ellis, y Carey, 2016).** Se colocó en un tubo EPPENDORF de 2 mL previamente pesado una alícuota de 1 mL del centrifugado y se registró el peso de la alícuota. Se adicionó 20 µL de solución de Cárrez I, 20 µL de solución de Cárrez II y 100 µL de NaOH 0,1 M para neutralizar el pH vortizando después de cada adición, luego se centrifugó a 15600 G por 15 min. Se pesó la muestra conjuntamente con la solución para determinar el factor de dilución por diferencia de pesos y se realizó la prueba de azúcares reductores por el método de DNS detallado en 2.2.1.6.

2.2.1.3 Cuantificación de azúcares reductores a través de la hidrólisis con invertasa

Se tomó una alícuota de 1 mL del centrifugado descrito en el paso 2.2.1.1.3, se colocó en un tubo EPPENDORF de 2 mL previamente pesado y se registró el peso de la alícuota, se añadió 140 µL de extracto de invertasa y se mezcló con agitación suave. Se dejó actuar a la enzima por 6 horas, para detener la hidrólisis enzimática la enzima fue inactivada térmicamente (sometida a ebullición por 5 min), luego se adicionó 20 µL de solución de Cárrez I, 20 µL de solución de Cárrez II y 100 µL de NaOH 0,1 M para neutralizar el pH vortizando después de cada adición, luego se

centrifugó a 15600 G por 15 min. Se pesó la muestra conjuntamente con la solución para determinar el factor de dilución por diferencia de pesos y se realizó la prueba de azúcares reductores con DNS detallado en el apartado 2.2.1.6
Nota: En la preparación de los blancos usados en este análisis, se realizaron los pasos anteriores incluyendo la muestra pero con enzima inactiva.

2.2.1.4 Cuantificación de azúcares totales

Para la cuantificación de azúcares totales se utilizó el proceso de hidrólisis ácida descrito por **Adrian et al. (2000),** se tomó una alícuota de 1 mL del centrifugado descrito en el apartado 2.2.1.1.3, se colocó en un tubo Eppendorf de 2 mL previamente pesado y se registró el peso de la alícuota. Se adicionó 20 µL de solución de Cárrez I, 20 µL de solución de Cárrez II luego se centrifugó a 15600 G por 15 min. Se pesó la muestra conjuntamente con la solución para determinar el factor de dilución por diferencia de pesos. Se tomó 400 µL del sobrenadante, se colocó en un tubo Eppendorf de 2 mL previamente pesado y se registró el peso, se añadió 40 µL de HCl concentrado y se llevó a un micro incubador PROVOCELL ESCO a 70 ºC y 450 rpm por 30 min. Finalmente se neutralizó el pH, se aforó a 2 mL (registrando el peso final de la solución), se centrifugó por 15 min a 15600 G y se realizó la prueba de azúcares reductores por el método de DNS detallado en el apartado 2.2.1.6.

2.2.1.5 Cuantificación de almidón

Para la cuantificación de almidón se realizó una hidrólisis enzimática, utilizando el método descrito por **Adrian et al., (2000).** Se pesó 50 mg de las harinas sin azúcares que se obtuvo en el paso 2.2.1.1.2 en un tubo de centrífuga de 15 mL, se añadió 1 mL de agua y se homogenizó, luego se colocó 140 µL de α-amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis,* se incubó por 30 min en agitación con la ayuda de magnetos a 400 rpm en un baño de agua a ebullición. Se utilizó una plancha eléctrica con agitación VWR.

Una vez terminado el tiempo de incubación se dejó enfriar y se añadió 2 mL de tampón acetato de sodio 0,1M de pH 4,5, luego se midió y se reguló hasta que el pH de la muestra sea 4,5. Seguidamente se añadió 100 µL de amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* diluida con tampón acetato en una relación de 1:10 v/v y se dejó actuar toda la noche en agitación a 400 rpm a una temperatura máxima de 50 ºC.

Al día siguiente se enfriaron los tubos a temperatura ambiente y se centrifugaron a 3000 G por 15 min, se separó el sobrenadante y se aforó a un volumen conocido.

Para cuantificar el almidón hidrolizado se colocó 1 mL de la muestra en un tubo EPPENDORF de 2 mL previamente pesado y se registró el peso de la alícuota. Se adicionó 20 µL de solución de Cárrez I, 20 µL de solución de Cárrez II y 100 µL de NaOH 0,1 M para neutralizar el pH vortizando después de cada adición, luego se centrifugó a 15600 G por 15 min. Se pesó la muestra conjuntamente con la solución para determinar el factor de dilución por diferencia de pesos y se realizó la prueba de azúcares reductores por el método de DNS, detallado en el apartado 2.2.1.6. El contenido de almidón se obtuvo multiplicando la tasa de glucosa por el factor de 0,9 para compensar la fijación de una molécula de agua por cada molécula de glucosa producto de la hidrolisis del almidón.

Nota: Para la preparación del blanco usado en este análisis, se realizaron los pasos anteriores exceptuando la adición de 50 mg de muestra.

2.2.1.6 Método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para cuantificar azúcares reductores

Se utilizó el método de DNS descrito por **Miller, (1959)** para cuantificar azúcares reductores. En tubos bacteriológicos de cristal con tapa se colocaron 200 µL de la muestra problema y 200 µL de la solución de DNS, luego se vortizó. Los tubos se colocaron en un baño de agua a ebullición por 5 min, seguidamente se sumergieron los tubos en agua fría para detener la reacción y se añadió 2 mL de agua destilada, se vortizó y se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro GENESIS TM,20 THERMO SCIENTIFIC a 540 nm frente al blanco descrito en cada tipo de análisis. Las lecturas se realizaron por triplicado.

2.2.1.7 Curva estándar de glucosa

Para elaborar la curva estándar de glucosa, se utilizó glucosa secada a 60 ºC por 4 horas y enfriada en un desecador. Se pesó 50 mg de glucosa, con aproximación de 0,1 mg, y se aforó a 25 mL para obtener una concentración de 2 mg/mL.

De esta solución se prepararon soluciones de glucosa 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. Se realizó la prueba de DNS frente a un blanco preparado con agua. Ver ANEXO B.

2.2.1.8 Cálculo de azúcares reductores, totales y almidón

El cálculo se realizó tomando en cuenta las diluciones realizadas, el peso empleado de la muestra, la curva de calibración de glucosa y la absorbancia.

2.2.2 Determinación de minerales, Ca (calcio), Fe (hierro), Mg (magnesio)

Se determinó la cantidad de Ca, Fe y Mg por absorción atómica. Para ello se utilizó el equipo espectrómetro de absorción atómica PG INSTRUMENTS modelo AA500, siguiendo los métodos oficiales de la AOAC: para el Fe el método 999.11 de la **AOAC (2005),** y para Ca y Mg se utilizó el método 985.35 de la **AOAC (1997)**.

2.2.2.1 Determinación de la humedad de las muestras

Para determinar la humedad de las muestras problema se utilizó una balanza con infrarrojo METTLER TOLEDO HX 204 MOISTURE ANALYZER. Se colocó en el equipo 1 g de muestra. Esta determinación se realizó por triplicado. Las condiciones de trabajo del equipo fueron: 150 ºC en la lámpara y un criterio de secado promedio de 1 mg/50seg.

2.2.2.2 Calcinación de las muestras

Se utilizaron crisoles de porcelana, los mismos que se llevaron a peso constante en una mufla NABERTHERM por 4 horas a 650 ºC, pasado este tiempo se dejó enfriar en un desecador, se registró el peso del crisol vacío, seguidamente se colocó aproximadamente 0,6 y 1,0 g de muestra seca que se obtuvo en el paso 2.2.2.1 y se registró el peso final (muestra más crisol). Luego se llevaron estas muestras una mufla NABERTHERM para su incineración a 650 ºC por 8 horas hasta obtener cenizas. Finalmente se dejó enfriar los crisoles con las cenizas en un desecador y se pesó para tener el peso final.

2.2.2.3 Digestión ácida de las cenizas

A las cenizas obtenidas en el paso 2.2.2.2 se les añadió 500 µL de ácido clorhídrico y 250 µL de ácido nítrico, ambos concentrados y se dejó reposar por 15 min.
La solución obtenida fue traspasada a balones de aforo de 25 mL, se utilizó jeringas de 1 mL y filtros de 0,45 µm AGILENT CAPTIVA, ECONO FILTER y se aforó a 25 mL con ácido nítrico 0,14 M. Estas soluciones fueron envasadas en frascos plásticos con tapa para su posterior análisis.

2.2.2.4 Elaboración de curvas de calibración de calcio, hierro y magnesio

Para elaborar las curvas de calibración se utilizaron patrones estándares monoelementales para absorción atómica de calcio, hierro y magnesio cada uno de 1000 $mg \cdot L^{-1}$ AccuStandard en HNO_3 5%.
A partir de las soluciones estándar se prepararon soluciones intermedias de 50 mg/L para hierro y calcio y de 12 mg/L para magnesio, aforadas con ácido nítrico 0,14 M. Para luego ser diluidas en distintas concentraciones (soluciones patrón).
Concentraciones para hierro (Fe): 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 y 2,00 mg/L.
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 hierro fue ácido nítrico 0,14M, mientras que el blanco y las muestras para medir calcio (Ca) y magnesio (Mg) se utilizó cloruro de

lantano al 1% p/v aforado con ácido nítrico 0,14 M. Las curvas típicas del calibrado se muestran en el ANEXO E.

2.2.2.5 Determinación de minerales

La medición de los micronutrientes se realizó en el espectrómetro de absorción atómica AA500 mediante el método de la llama utilizando un mechero de aire/acetileno. Las condiciones instrumentales para la lectura de cada elemento se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. *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	N2O/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

Para poner a punto el equipo, se encendió la computadora, el compresor y el extractor de aire, se abrió el tanque de acetileno, se inició el software y se configuró con los parámetros característicos de cada elemento establecidos en el Analytical

Cookbook PG Instruments espectrómetro de absorción atómica AA500, se colocó la lámpara específica para cada metal, finalmente se encendió la llama para iniciar con el análisis.

Las soluciones fueron inyectadas por el capilar que está en la parte lateral del equipo, primero se elabora la curva de calibración de la siguiente manera: se inyecta el blanco, seguidamente las soluciones patrón preparadas en el punto 2.2.2.4 de menor a mayor concentración, finalmente se aspiran las soluciones problema para medir sus absorbancias.

Las mediciones se realizaron con 10 réplicas con tres lecturas de absorbancia cada una, para medir .

Nota: algunas muestras necesitaron ser diluidas para ajustar los valores de absorbancia a los de la curva de calibración.

2.2.2.6 Cuantificación de minerales

La concentración de los metales analizados (Ca, Fe y Mg) fueron reportados en mg de mineral/Kg de harina en base seca, para lo cual se tomó en cuenta: la curva de calibración, la ecuación de la recta, las diluciones y el peso inicial de muestra en base seca.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DESENGRASADO DE HARINAS

En la tabla 2. se presenta el contenido de grasa de las harinas de gandul verde, gandul maduro, zarandaja P1 y P2 que fueron desengrasadas en el extractor de grasa Velp Scientifica SER 148, se utilizó el método 2003.06 de la **AOAC, (2006)** que es específico para la extracción de grasa en granos de cereales descrito en el apartado 2.2.1.1.1.

Tabla 2. *Contenido de grasa en las harinas estudiadas*

Harinas	**Gandul**		**Zarandaja**	
	Verde	**Maduro**	**Proveedor 1**	**Proveedor 2**
Contenido de grasa (%)	2,27 ±0,001	1,46 ±0,001	1,10 ±0,001	0,90 ±0,002

Los valores están expresados como la media de 2 réplicas ± la desviación estándar.

El contenido de grasa de las harinas estudiadas son comparables con los resultados de **Amaya y Benítez, (2006)** que presentaron 1,7%, **Vásquez (2017)** reportó 1,8% y **Navarro, Restrepo y Pérez (2014)** encontraron 2,03% de grasa para gandul. Mientras que para zarandaja **Guarnizo (2014)** presentó el 1% y **Galarza (2016)** reportó 0,67% de grasa.

3.2 CUANTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS (AZÚCARES REDUCTORES, TOTALES Y ALMIDÓN) MEDIANTE EL MÉTODO DEL ÁCIDO 3,5 DINITROSALICÍLICO (DNS)

En la cuantificación de carbohidratos se elaboró una curva estándar de glucosa entre 0,2 y 2,0 mg/mL obteniendo la Ecuación 1 que se utilizó para cuantificar los carbohidratos en sus diferentes análisis.

$$y = 0{,}5619x - 0{,}0102$$ **Ecuación 1**

Donde: y: absorbancia medida a 540nm, x: concentración de glucosa en [mg/mL]

Se utilizó el método del DNS que es un método espectrofotométrico de alta sensibilidad basado en una reacción redox entre el DNS y los azúcares reductores. Las harinas fueron previamente desengrasadas para evitar las interferencias que ocasionan las muestras intensamente coloreadas o con grasa **(Gil, Bocourt y Maqueira, 2006)**.

En la tabla 3. se presentan los resultados obtenidos en los diferentes análisis de carbohidratos, los valores de las concentraciones de los carbohidratos se presentan en g de carbohidratos por 100g de harina.

Tabla 3. *Contenido de azúcares reductores, sacarosa, azúcares totales y almidón*

HARINAS	Azúcares Reductores (%)	Sacarosa (%)	Azúcares totales (%)	Almidón (%)
CHOCHO	0,15±0,01	3,83 ±0,11	7,06 ±0,14	3,08 ±0,30
GANDUL VERDE	0,89±0,02	0,38 ±0,03	0,70 ±0,06	42,88 ±1,32
GANDUL MADURO	0,45±0,03	2,37 ±0,22	2,72 ±0,25	41,53 ±0,66
ZARANDAJA P1	0,22±0,01	1,92 ±0,16	2,24 ±0,23	32,26 ±1,18
ZARANDAJA P2	0,27±0,01	2,13 ±0,11	2,03 ±0,26	40,56 ±1,77

Los valores presentados en esta tabla representan la media de 2 réplicas con 3 medidas de absorbancia cada una (Ver ANEXO D), ± la desviación estándar. P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2.

El contenido de carbohidratos de las diferentes matrices es comparable con resultados de estudios anteriores. Para chocho **Caicedo et al. (2010)** obtuvieron para azúcares totales 6,45% y almidón 2,99%, **Reyes et al. (2009)** en las Tablas Peruanas de composición de alimentos reportaron 12,9% de carbohidratos totales.

Para gandul la **FAO, (2016)** reporta que tiene 43,2% de carbohidratos y 1,5% de fibra y **Amaya y Benítez, (2006)** reportan en la tabla de análisis químico que la

cantidad de carbohidratos es de 47,8% y fibra cruda de 6,4% y para gandul verde reportan 7,0% de fibra cruda.

Para zarandaja **Reyes et al., (2009)** en la tabla de composición de alimentos peruana reportan que tiene 37,1% de carbohidratos disponibles y 62,0% de carbohidratos totales y **Galarza, (2016)** reporta que tiene 61,41% de carbohidratos totales y 12,35% de fibra cruda.

El almidón y la fibra alimentaria presente en las leguminosas son variables desde el punto de vista metabólico ya que algunas son absorbidas rápidamente y otras son resistentes a la digestión (polisacáridos amiláceos, celulosa y almidón resistente), la cantidad de fibra, almidón y almidón resistente varía dependiendo del tipo de leguminosa, el estado de maduración, el tipo de suelo y el tiempo de cosecha **(Sarmento, 2012).**

Las leguminosas analizadas presentan un porcentaje alto de carbohidratos, que es la principal forma de almacenamiento de glucosa en las plantas, los datos bibliográficos de carbohidratos de las diferentes matrices reportadas en las TCA y otros trabajos investigativos fueron calculados por diferencia, un ejemplo claro es la TCA peruana descrita por **Reyes et al. (2009)** en donde la estimación de los carbohidratos totales y carbohidratos disponibles los determina por diferencia (Ecuaciones 2 y 3) sus resultados son comparables con los obtenidos en este trabajo que fueron realizados para el análisis de azúcares reductores en medio acuoso **(Mensah et al., 2016)**, hidrólisis enzimática de sacarosa con invertasa **(Timerman, 2012)**, azúcares totales por hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática del almidón con las enzimas α-amilasa y amiloglucosidasa descritos por **Adrian et al. (2000)**, el conjunto de estos análisis es específico para carbohidratos disponibles.

$$\boldsymbol{CT} = 100 - (\mathrm{P} + \mathrm{Gr} + \mathrm{agua} + \mathrm{C} + \mathrm{OH}) \quad \textbf{Ecuación 2.}$$

$$\boldsymbol{CD(g)} = 100 - (\mathrm{P} + \mathrm{Gr} + \mathrm{agua} + \mathrm{C} + \mathrm{OH} + \mathrm{FD}) \quad \textbf{Ecuación 3}$$

Donde: CT: Carbohidratos totales, CD: carbohidratos disponibles, P: proteína, Gr: grasa, C: Ceniza, OH: alcohol, FD: fibra dietaria.

3.3 ANALISIS DE HIERRO (Fe), CALCIO (Ca) y MAGNESIO (Mg) EN LAS HARINAS

Se prepararon diariamente curvas de calibrado a partir de patrones acuosos monoelementales, en el ANEXO E se muestra una curva típica del calibrado para cada elemento, las ecuaciones para cada elemento mineral que se utilizaron fueron.

$$y = 0{,}3268x + 0{,}0007$$ **Ecuación 4**

Donde: y: absorbancia medida a 248,3nm, x: concentración de calcio en [mg/L]

$$y = 0{,}1669x + 0{,}0076$$ **Ecuación 5**

Donde: y: absorbancia medida a 422,7 nm, x: concentración de hierro en [mg/L]

$$y = 1{,}3919x + 0{,}0074$$ **Ecuación 6**

Donde: y: absorbancia medida a 285,2 nm, x: concentración de magnesio en [mg/L]

La concentración de calcio, hierro y magnesio se obtuvo a partir de la comparación directa de la señal de la muestra frente a las señales de las curvas de calibración. Los valores de las concentraciones de los micronutrientes se indican en la Tabla 4, están reportados en mg de metal por Kg de harina seca.

Tabla 4. *Concentración de calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg)*

	[Ca] mg Ca/Kg	[Fe] mg Fe/Kg	[Mg] mg Mg/Kg
Chocho	471,0 ±36,0	129,1 ± 12,0	2586,8 ± 157,6
Gandul verde	6379,2± 220,0	48,5± 4,0	1343,3± 28,0
Gandul maduro	4620,0 ± 277,1	56,4 ± 4,5	1222,4 ± 45,5
Zarandaja P1	1236,3 ± 51,7	82,5 ± 9,0	1908,4 ± 184,6
Zarandaja P2	670,8 ± 33,4	92,7 ± 6,8	1458,6 ± 26,8

Los valores presentados en esta tabla representan el promedio de las 10 réplicas con 3 mediciones ± la desviación estándar. P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2.

En la TCA peruana **Reyes et al. (2009)** reportan para el chocho 540 mg/Kg de muestra para calcio y 23 mg/Kg de hierro, mientras que en un estudio realizado por **Ortega, Rodríguez y Zamora (2010)** para la caracterización del chocho sembrado

en los Andes de Colombia reportan para el cotiledón de chocho 400mg/Kg de calcio, 3500mg/Kg de Magnesio y 58 mg/Kg de hierro.

Para las harinas de gandul, la TCA Peruana reporta que el gandul seco tiene 1140 mg/Kg de Ca, y 29 mg/Kg de hierro **(Reyes et al., 2009)**, la **FAO, (2016)** en la revista titulada "Legumbres Semillas nutritivas para un futuro sostenible" reporta que tiene hierro 47mg/Kg y magnesio 1830 mg/Kg y la TCA de Centroamérica reporta que el gandul seco tiene calcio 1300 mg/Kg, hierro 52,3 mg/Kg y magnesio 1830 mg/Kg, mientras que el gandul de grano verde tiene 420 mg/Kg de calcio, 16 mg/Kg de hierro y 680 mg/Kg de magnesio **(Menchú y Méndez, 2007).**

Para las harinas de zarandaja la TCA peruana reporta 670 mg/Kg de calcio y 64 mg/Kg de hierro **(Reyes et al., 2009)** y **Guarnizo (2014)** en el cuadro de análisis de la composición química reporta 73 mg/Kg de hierro y 460 mg/Kg de calcio.
La TCA de Centroamérica aclara que los productos vegetales o derivados, el contenido nutricional de los alimentos está en función del clima, suelo, grado de maduración al ser cosechado y la variedad cultivada **(M. Menchú y Méndez, 2007)**, esta diferencia de micronutrientes y carbohidratos se puede apreciar en los datos reportados para gandules y zarandaja por la TCA peruana y la TCA centroamericana, ya que estas leguminosas fueron cosechadas en ubicaciones geográficas y climas distintos.

En la tabla 5 se presenta una TCA de las harinas de chocho, gandul y zarandaja, basada en los resultados obtenidos en los diferentes análisis de carbohidratos y minerales.

Tabla 5. *Tabla de composición de alimentos TCA de las harinas de chocho, gandul y zarandaja*

HARINAS	Grasa	Azúcares Reductores (%)	Sacarosa (%)	Azúcares totales (%)	Almidón (%)	[Ca] mg Ca/Kg	[Fe] mg Fe/Kg	[Mg] mg Mg/Kg
CHOCHO	-	0,15	3,83	7,06	3,08	471,0	129,1	2586,8
GANDUL VERDE	2,27%	0,89	0,38	0,70	42,88	6379,2	48,5	1343,3
GANDUL MADURO	1,46%	0,45	2,37	2,72	41,53	4620,0	56,4	1222,4
ZARANDAJA P1	1,10%	0,22	1,92	2,24	32,26	1236,3	82,5	1908,4
ZARANDAJA P2	0,90%	0,27	2,13	2,03	40,56	670,8	92,7	1458,6

Los valores de esta tabla representan la cantidad de grasa y carbohidratos en g por 100g de harina y la cantidad de mineral por Kg de harina, Ca: calcio, Fe: hierro, Mg: magnesio, P1: proveedor 1, P2: proveedor 2.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Se evaluó el contenido de carbohidratos y de minerales calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg) en harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul maduro y verde (*Cajanus cajan*) y zarandaja (proveedor 1, (P1) y proveedor 2, (P2)) (*Lablab purpureus*), a través de metodologías de alta sensibilidad como la prueba de DNS para carbohidratos y la espectrofotometría de absorción atómica para metales.

- Se adecuó una metodología específica para cada los diferentes tipos de carbohidratos que tienen las harinas estudiadas, para lo cual se realizó una extracción en medio acuoso para azúcares reductores, hidrólisis con invertasa para sacarosa, ruptura de carbohidratos en medio ácido para azúcares totales e hidrólisis enzimática con α amilasa y amiloglucosidasa para almidón.

- Se cuantificó el porcentaje de carbohidratos disponibles de las harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul maduro y verde (*Cajanus cajan*) y zarandaja (proveedor 1, (P1) y proveedor 2, (P2)) (*Lablab purpureus*) a través de la sumatoria de los resultados de los análisis de carbohidratos (azúcares reductores, azúcares totales y almidón) se empleó para su cuantificación una curva estándar de glucosa.

- Se determinó el contenido de los elementos minerales calcio (Ca), hierro (Fe) y magnesio (Mg) en las harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul maduro y verde (*Cajanus cajan*) y zarandaja (proveedor 1, (P1) y proveedor 2, (P2)) (*Lablab purpureus*) con el método de espectrofotometría de absorción atómica utilizando una curva patrón para cada mineral.

- Se elaboró una tabla de composición de alimentos (carbohidratos y minerales) la misma que describe la concentración porcentual de carbohidratos (g de carbohidratos/100 g de muestra) y la concentración de los metales calcio, hierro y magnesio (mg de metal/Kg de muestra) la TCA se puede observar en la Tabla 5.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se puede realizar una investigación de la digestibilidad y la caracterización del almidón además de un estudio de la cantidad de celulosa para identificar las posibles diferencias existentes entre harinas de leguminosas maduras y verdes.

- Realizar este tipo de análisis con otras harinas del ecuador y completar la TCA propuesta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A. Y., y Dauvillier. (2000). P.(2000). *Análisis Nutricional de Los Alimentos. Acribia, Zaragoza*.

Álvarez, D. (2016). Determinación de sodio, potasio, hierro, calcio y zinc en arveja, lenteja y harina de haba, por espectrofotometría de absorción atómica de llama. PUCE.

Amaya, Y. H., y Benítez, E. R. (2006). Evaluación de diferentes niveles (20%, 30% y 40%) de harina de semilla de gandul (cajaus cajan) en la alimentación de ave criolla en la fase crecimiento-desarrollo. Retrieved from http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7140

AOAC. (1997). Extension of dry ash atomic absorption and spectrophotometric methods to determination of minerals and phosphorus in soy-based, whey-based, and enteral formulae (modification of AOAC Official Methods 985.35 and 986.24): collaborative study. *Journal of AOAC International*, *80*(4), 834–844.

AOAC. (2005). *Official methods of analysis* (18th ed., Vol. 222). Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.

AOAC. (2006). AOAC Official Method 2003.06 Crude Fat in Feeds, Cereal Grains, and Forages. *AOAC*.

Arias, M. J., Barrera, B. Y. y Rodríguez, J. F. (2010). Uso de diferentes niveles de harina de semilla de gandul (cajanus cajan) como suplemento en la alimentación de pollo de engorde. Universidad de El Salvador.

Baca-Ibáñez, S. Y., Ríos-Paico, P. E. y Rojas-Naccha, J. C. (2016). Importancia del magnesio en la dieta humana. *Agroindustrial Science*, *5*(2), 177–189.

Butcher, D. J. y Sneddon, J. (1998). *A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry*. John Wiley & Sons.

Caicedo, V., Murillo, I., Pinzón, Z., Peralta, I. y Rivera, M. (2010). INIAP-450 Andino: Variedad de Chocho (Lupinus mutabilis Sweet).

Castañeda, B., Manrique, R., Gamarra, F., Muñoz, A., Ramos, F., Lizaraso, F. y Martínez, J. (2008). Probiótico elaborado en base a las semillas de Lupinus mutabilis sweet (chocho o tarwi). *Acta Médica Peruana*, *25*(4), 210–215.

Castañeda, Manrique, Ibáñez, Gamarra, Galan y Quispe. (2002). Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de Lupinus mutabilis Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación. *Horizonte Médico USMP*, 54–70.

Cervera, P., Clapés, J. y Rigolfas, R. (2001). *Alimentación*. McGraw-Hill. Interamericana.

Dergal, S. y Cejudo, Hú. R. Tú. (2006). *Química de los alimentos.* Pearson educación.

FAO, D. de comunicación corporativa de la F. (2016). Legumbres Semillas nutritivas para un futuro sostenible.

Galarza, I. (2016). *Evaluación de la digestibilidad gastrointestinal in vitro y actividad antioxidante en concentrados proteicos de zarandaja (Lablab purpureus L. Sweet).*

Gil, D. B., Bocourt, E. C. y Maqueira, Y. D. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3, 5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, *40*(2), 45–50.

Godínez, J. R. y Gutiérrez, A. D. R. (2017). Importancia de los carbohidratos en la industria alimentaria. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, *4*(8).

Guarnizo, L. R. (2014). Estudio alimentario tradicional para impulsar la agroindustria en la comuna Collana Catacocha. Retrieved from http://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/10829

Henao, I., Franco-Correa, M. y Marín, G. (2006). Evaluación de métodos de conservación para Aspergillus niger con actividad enzimática amilolítica. *Universitas Scientiarum*, *11*(2).

Menchú, M. y Méndez, H. (2007). *Tabla de composición de alimentos de Centroamérica*. Retrieved from http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/31253

Menchú, M. T. y Méndez, H. (2007). *Tabla de composición de alimentos de Centroamérica*. INCAP.

Mensah, E., Oduro, I., Ellis, W. y Carey, E. (2016). Thermal Stability of-Amylase Activity and Sugar Profile of Sweet-Potato Varieties during Processing. Retrieved from http://ir.knust.edu.gh/handle/123456789/10814

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(3), 426–428.

Montero, C., Macías, E. y Wong-Vega, L. (2006). Organogénesis directa y múltiple en tejidos juveniles de guandú o gandul (Cajanus cajan (L.) Millsp.). *Invet. Pens. Crit*, *4*, 20–31.

Navarro, C., Restrepo, D. y Pérez, J. (2014). El guandul (Cajanus cajan) una alternativa en la industria de los alimentos. *Revistabiotecnologia.Unicauca.Edu …*. Retrieved from http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/view/348

Ortega, E., Rodríguez, A. y Zamora, Á. (2010). Caracterización de semillas de lupino (Lupinus mutabilis) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica*, *59*(1).

Ortiz-Moncada, R., Rocha, K. y Domenech, G. (2016). Revisión de las tablas de composición de alimentos usadas para estimar la ingesta de nutrientes en Ecuador. *Revista Chilena de Nutrición*, *43*(2), 209–216.

Pengelly, B. C. y Maass, B. L. (2001). Lablab purpureus (L.) Sweet–diversity, potential use and determination of a core collection of this multi-purpose tropical legume. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *48*(3), 261–272.

Pérez Grana, R. (2013). Exactitud de las tablas de composición de alimentos en la determinación de nutrientes. *SciELO Espana*. Retrieved from

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1887-85712013000200008&script=sci_arttext&tlng=pt

Reyes, M., Gómez-Sánchez, I., Espinoza, C., Bravo, F., Ganoza, L. y Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. (2009). *Tablas peruanas de composición de alimentos* (8th ed.). Lima: Instituto Nacional de Salud.

Sarmento, T. (2012). Impacto del procesamiento sobre la pared celular y las propiedades hipoglucémicas y tecnofuncionales de leguminosas. Retrieved from https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/12817/61684_rachel_sarmento_thaise.pdf?sequence=1

Timerman. (2012). The isolation of invertase from baker's yeast–an introduction to protein purification strategies. *Intechopen.Com*. Retrieved from https://www.intechopen.com/download/pdf/26595

Vásquez, G. (2017). Estudio del frijol gandul (cajanus cajan) como fuente de proteína en la alimentación de la codorniz (Coturnix, coturnix). JIPIJAPA: AGROPE.-2017-04.

Villacrés|, E., Rubio, A., Egas, L. y Segovia, G. (2006). Analítico: Usos alternativos del chocho. *Boletín Divulgativo, Quito, Ecuador*.

ANEXOS

ANEXO A

DESENGRASADO DE HARINAS

Tabla 6. *Datos de la cuantificación de grasa de las harinas estudiadas*

	Réplicas	W. Dedal (g)	W. Harina (g)	w. Vaso + núcleo inicial (g)	w. Vaso + núcleo final (g)	w. Dedal+ muestra desengrasada	w. Muestra desengrasada	grasa	promedio de grasa	Desv. est	coef. Var
Chocho	1	3,135	2,520	74,400	74,408	5,511	2,376	0,302	0,375	0,103	27,596
	2	3,190	2,501	74,391	74,402	5,581	2,391	0,448			
Gandul verde	1	3,382	2,557	74,364	74,420	5,690	2,309	2,167	2,269	0,145	6,378
	2	3,489	2,505	74,362	74,422	5,766	2,277	2,371			
Gandul maduro	1	3,263	2,537	74,287	74,322	5,556	2,293	1,396	1,463	0,095	6,510
	2	3,264	2,490	74,273	74,311	5,445	2,181	1,530			
Zarandaja P1	1	3,076	2,551	76,410	76,438	5,377	2,301	1,098	1,100	0,004	0,365
	2	3,071	2,529	75,170	75,198	5,352	2,281	1,103			
Zarandaja P2	1	3,632	2,507	73,098	73,116	5,938	2,306	0,742	0,895	0,217	0,242
	2	3,693	2,499	74,986	75,012	5,990	2,298	1,049			

La harina de chocho fue entregada desengrasada. P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2. W: masa, Desv Est: Desviación estándar, Coef. Var: Coeficiente de variación.

ANEXO B

Tabla 7. *Datos para la elaboración de la curva estándar de glucosa*

Volumen de sol. de glucosa (mL)	Peso de sol. de glucosa. (g)	Volumen de H_2O (mL)	peso total. (g)	concentracion [mg/ml]	absorbancia (540nm)
0	0	1	1	0	0
0,100	0,099	0,900	0,988	0,201	0,099
0,200	0,197	0,800	0,986	0,400	0,213
0,300	0,290	0,700	0,981	0,592	0,316
0,400	0,391	0,600	0,977	0,801	0,440
0,500	0,493	0,500	0,987	0,998	0,560
0,600	0,598	0,400	0,987	1,211	0,672
0,700	0,686	0,300	0,987	1,391	0,773
0,800	0,804	0,200	1,007	1,597	0,901
0,900	0,894	0,100	0,996	1,794	1,000
1,000	0,979	0,000	0,979	2,000	1,096

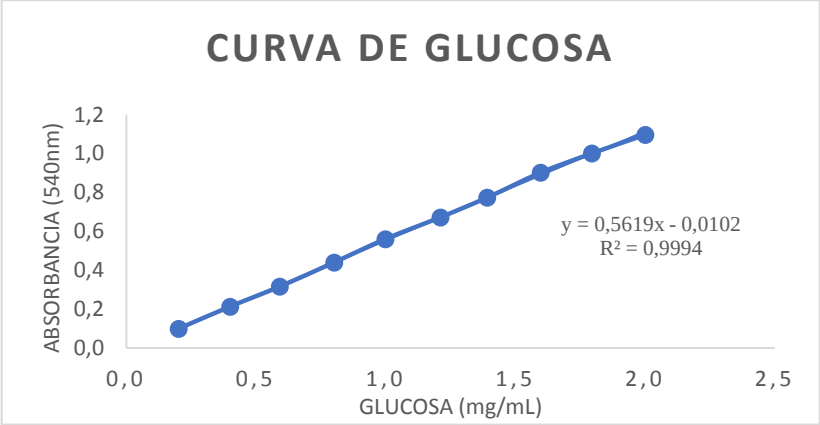


Figura 1 Curva de glucosa

La gráfica de la curva de glucosa muestra la correlación que existe entre la concentración de glucosa [mg/mL] y la absorbancia (540nm). En la ecuación 3 se observa lo siguiente:

$$A=m*C+B$$ **ecuación 3**.

Donde: A: Absorbancia medida a 540nm, m: Pendiente de la ecuación de la curva de calibración, C: Concentración (mg/mL), B: Intercepto de la curva de calibración.

ANEXO C

Tabla 8. *Datos obtenidos para la extracción de azúcares*

	Réplicas	**W. Dedal (g)**	w. Muestra desengrasada (g)	W. Muestra sin azúcares + dedal (g)	W. Muestra sin azúcares (g)	w. De aforo (g)
Chocho	1	3,135	2,376	5,0343	1,899	10,0353
	2	3,190	2,3908	5,0393	1,849	10,1413
Gandul verde	1	3,382	2,3086	5,6023	2,221	10,0063
	2	3,489	2,2773	5,6381	2,149	10,7661
Gandul maduro	1	3,263	2,2925	5,4108	2,147	10,0997
	2	3,264	2,1812	5,41	2,146	10,0498
Zarandaja P1	1	3,076	2,3006	5,2382	2,162	8,1075
	2	3,071	2,2811	5,1855	2,115	8,0848
Zarandaja P2	1	3,632	2,3055	5,7398	2,108	10,0263
	2	3,693	2,2977	5,8755	2,183	10,0263

Donde: P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2. W: masa, Desv Est: Desviación estándar, Coef.Var: Coeficiente de variación.

ANEXO D

DATOS OBTENIDOS PARA EL ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES, TOTALES, SACAROSA Y ALMIDÓN

Tabla 9. *Datos obtenidos para el análisis de azúcares reductores*

	H.sin grasa (g)	Absorbancia			Azúcares Reductores (%)			promedio	desv. est.	coef. var.
		R1	R2	R3						
CHOCHO	0,2070	0,009	0,007	0,007	0,155	0,139	0,139	0,15	0,01	6,33
GANDUL VERDE	0,1000	0,037	0,039	0,038	0,879	0,917	0,899	0,89	0,02	1,87
GANDUL MADURO	0,0993	0,012	0,016	0,014	0,409	0,483	0,446	0,45	0,03	6,07
ZARANDAJA P1	0,1069	0,014	0,015	0,015	0,216	0,225	0,226	0,22	0,01	2,33
ZARANDAJA P2	0,2013	0,009	0,009	0,010	0,305	0,295	0,296	0,30	0,01	3,19

Donde: H: harina, R: réplica, %: g de azúcar/100g de muestra, P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2. W: masa, Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 10. *Datos obtenidos en el análisis de azúcares reductores luego de la hidrólisis con invertasa*

	Dilución	Absorbancia			Azúcares Reductores (%)			promedio	desv. est.	coef. var.
		R1	R2	R3						
CHOCHO	7,974	0,541	0,532	0,523	3,796	3,734	3,672			
	8,007	0,548	0,544	0,552	3,927	3,899	3,955	3,831	0,114	2,983
GANDUL VERDE	1,000	0,095	0,091	0,094	0,359	0,345	0,355			
	1,000	0,099	0,098	0,101	0,399	0,395	0,406	0,376	0,026	6,994
GANDUL MADURO	8,147	0,306	0,306	0,302	2,183	2,183	2,155			
	8,006	0,361	0,354	0,348	2,613	2,564	2,522	2,370	0,217	9,165
ZARANDAJA P1	8,170	0,314	0,311	0,315	1,771	1,755	1,777			
	8,053	0,368	0,365	0,365	2,077	2,061	2,061	1,917	0,164	8,550
ZARANDAJA P2	7,985	0,295	0,308	0,316	2,124	2,214	2,270			
	8,232	0,295	0,270	0,268	2,184	2,005	1,990	2,131	0,114	5,337

Donde: R: Réplica, %: g de azúcar/100g de muestra, P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2, Desv Est: Desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 11. *Datos obtenidos en el análisis de azúcares totales*

	Dilución	V.Aforo	Absorbancia			Azúcares Reductores (%)			promedio	desv. est.	coef. var.
			R1	R2	R3						
CHOCHO	5,057	2,009	0,854	0,843	0,824	7,176	7,000	6,842			
	5,105	2,016	0,825	0,844	0,853	6,974	7,134	7,210	7,056	0,142	2,006
GANDUL VERDE	5,126	2,020	0,151	0,150	0,149	0,614	0,610	0,606			
	5,251	2,019	0,158	0,155	0,160	0,729	0,715	0,738	0,669	0,064	9,633
GANDUL MADURO	5,096	2,026	0,614	0,606	0,599	2,526	2,493	2,464			
	5,005	2,016	0,719	0,730	0,710	2,947	2,992	2,910	2,722	0,251	9,235
ZARANDAJA P1	5,248	2,109	0,671	0,645	0,645	2,087	2,006	2,006			
	5,060	2,026	0,797	0,776	0,810	2,458	2,393	2,498	2,241	0,233	10,375
ZARANDAJA P2	5,144	2,073	0,589	0,587	0,592	2,262	2,254	2,273			
	5,295	2,160	0,458	0,458	0,455	1,794	1,794	1,782	2,026	0,259	12,801

Donde: V: Volumen, R: réplica, %: g de azúcar/100g de muestra, P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2, Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 12. *Datos obtenidos en el análisis de almidón*

HARINA	W. harina sin azúcar(mg)	V. Aforo (mL)	Absorbancia			Almidón (%)			Promedio	Desv. est	Coef.Var
			R1	R2	R3						
CHOCHO (1)	101,2	4,987	0,408	0,424	0,426	2,839	2,947	2,961	3,079	0,296	9,626
CHOCHO (1)	111,0	5,0099	0,437	0,422	0,424	2,771	2,678	2,691			
CHOCHO (2)	105,2	4,9956	0,493	0,509	0,500	3,230	3,333	3,275			
CHOCHO (2)	101,3	4,935	0,490	0,510	0,520	3,298	3,430	3,496			
GANDUL VERDE (1)	58,5	20,0077	0,773	0,800	0,804	42,327	43,786	44,002	42,880	1,321	3,081
GANDUL VERDE (1)	52,3	20,0117	0,666	0,707	0,673	40,930	43,411	41,353			
GANDUL VERDE (2)	54,6	19,954	0,717	0,731	0,725	41,501	42,300	41,957			
GANDUL VERDE (2)	57,8	20,0106	0,816	0,791	0,809	44,911	43,552	44,531			
GANDUL MADURO (1)	57,0	20,0016	0,737	0,742	0,748	40,589	40,860	41,186	41,529	0,658	1,584
GANDUL MADURO (1)	58,5	20,0142	0,774	0,787	0,789	41,487	42,175	42,281			
GANDUL MADURO (2)	61,8	20,0168	0,785	0,801	0,798	40,616	41,433	41,280			
GANDUL MADURO (2)	63,4	19,9817	0,830	0,845	0,839	41,748	42,493	42,195			
ZARANDAJA P1 (1)	52,7	14,9387	0,717	0,732	0,779	32,021	32,681	34,751	32,258	1,184	3,671

ZARANDAJA P1 (1)	52,7	15,0108	0,752	0,733	0,709	33,984	33,137	32,067			
ZARANDAJA P1 (2)	52,5	14,9967	0,698	0,717	0,716	31,062	31,895	31,852			
ZARANDAJA P1 (2)	54,0	15,0247	0,708	0,718	0,722	30,871	31,300	31,472			
ZARANDAJA P2 (1)	53,7	15,0152	0,881	0,885	0,897	38,331	38,503	39,019	40,557	1,773	4,372
ZARANDAJA P2 (1)	51,1	14,9757	0,866	0,861	0,857	39,533	39,307	39,127			
ZARANDAJA P2 (2)	51,2	14,9963	0,908	0,909	0,892	43,008	43,055	42,259			
ZARANDAJA P2 (2)	52,1	15,0227	0,885	0,905	0,902	40,950	41,865	41,728			

Donde: W. masa, V: Volumen, R: réplica, %: g de almidón/100g de muestra, P1: Proveedor 1, P2: Proveedor 2, Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

ANEXO E

DATOS OBTENIDOS PARA ANALISIS DE HIERRO (Fe), MAGNESIO (Mg) Y CALCIO (Ca)

Tabla 13. *Condiciones instrumentales del equipo para cada elemento*

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	N2O/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

Curvas de Calibrado para hierro (Fe), calcio (Ca) y magnesio (Mg)

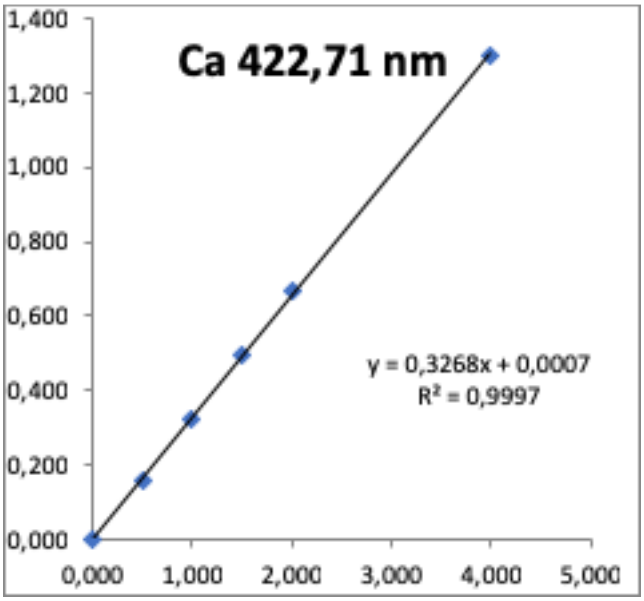


Figura 2. *Curva de calibración de calcio a partir de patrones acuosos medido a 422,72 nm.*

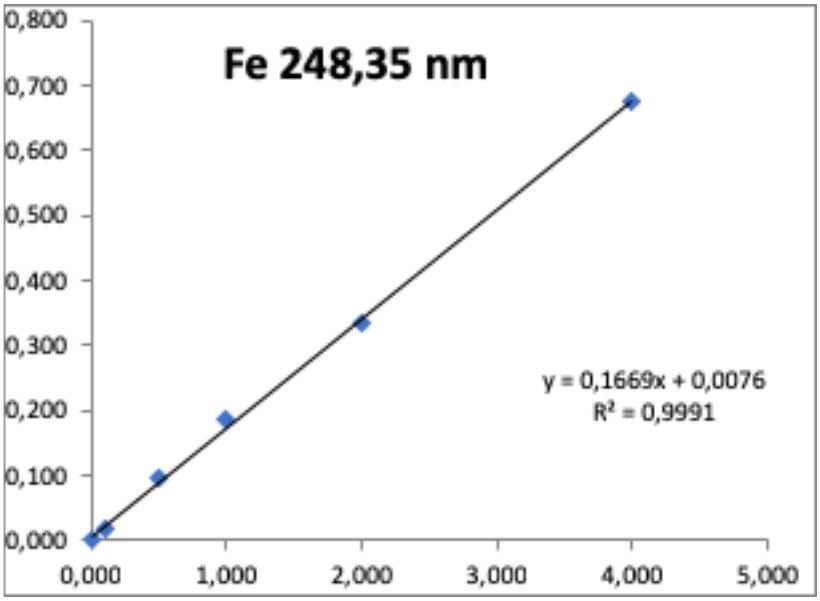


Figura 3. *Curva de calibración de hierro a partir de patrones acuosos medido a 248,35 nm.*

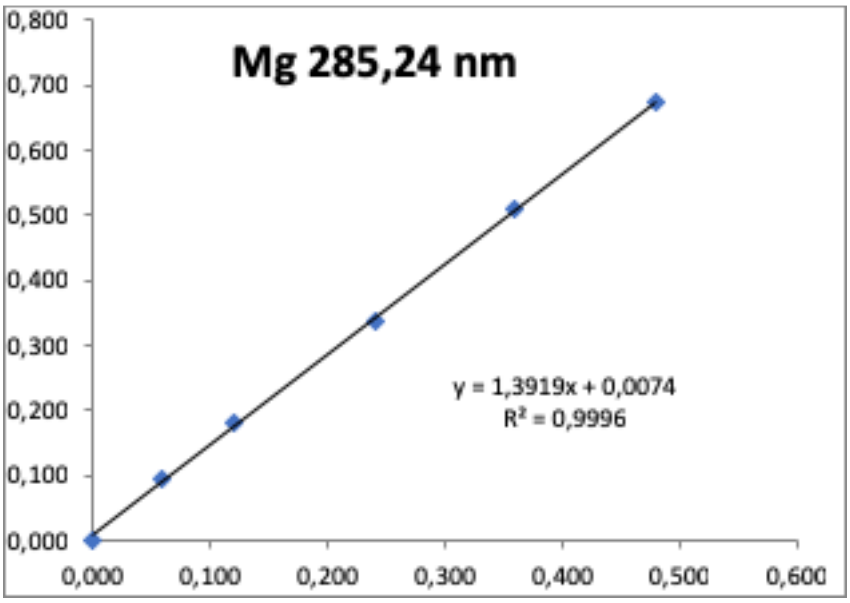


Figura 4. *Curva de calibración de magnesio a partir de patrones acuosos medido a 285,24 nm*

Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes

Tabla 14. *Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de chocho*

	Chocho, mg metal/kg Harina seca				
	Calcio	Hierro	Magnesio	Cenizas	% Humedad
	491	137,3	2600	4,56%	8,00%
	435	146,1	2617	4,46%	8,20%
	433	119,7	2612	4,35%	8,16%
	480	121,4	2335	4,34%	
	515	120,9	2771	4,47%	
Promedio	***471***	***129***	***2587***	***4,43%***	***8,12%***
Desv.est	***36***	***12***	***158***	***0,09%***	***0,11%***
Coef.var.	7,6%	9,3%	6,1%	2,0%	1,3%

Donde: Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 15. *Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de gandul verde*

	Gandul verde, mg metal/kg Harina seca				
	Calcio	Hierro	Magnesio	Cenizas	% Humedad
	6208	48,7	1334	3,86%	9,21%
	6657	44,4	1303	3,87%	9,23%
	6115	46,5	1353	3,96%	8,88%
	6509	55,1	1347	3,81%	
	6408	48,0	1379	3,91%	
Promedio	***6379***	***49***	***1343***	***3,88%***	***9,11%***
Desv.est	***220***	***4***	***28***	***0,05%***	***0,20%***
Coef.var.	3,4%	8,3%	2,1%	1,4%	2,2%

Donde: Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 16. *Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de gandul maduro*

	Gandul maduro, mg metal/kg Harina seca				
	Calcio	Hierro	Magnesio	Cenizas	% Humedad
	4576	53,2	1246	4,23%	9,69%
	5074	51,0	1292	4,32%	9,48%
	4342	56,7	1194	4,34%	9,52%
	4474	62,2	1188	4,18%	
	4634	58,9	1192	4,33%	
Promedio	***4620***	***56***	***1222***	***4,28%***	***9,56%***
Desv.est	***277***	***4***	***45***	***0,07%***	***0,11%***
Coef.var.	6,0%	7,9%	3,7%	1,7%	1,2%

Donde: Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 17. *Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de zarandaja proveedor 1*

	Zarandaja proveedor 1, mg metal/kg Harina seca				
	Calcio	Hierro	Magnesio	Cenizas	% Humedad
	1220	74,0	2237	3,83%	10,29%
	1169	76,7	1852	3,85%	9,80%
	1286	77,8	1816	3,90%	9,84%
	1215	95,0	1811	3,86%	
	1291	89,0	1826	3,86%	
Promedio	***1236***	***83***	***1908***	***3,86%***	***9,98%***
Desv.est	***52***	***9***	***185***	***0,03%***	***0,27%***
Coef.var.	4,2%	10,9%	9,7%	0,7%	2,7%

Donde: Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 18. *Resultados obtenidos en la determinación de micronutrientes en harina de zarandaja Proveedor 2*

	Zarandaja proveedor 2, mg metal/kg Harina seca				
	Calcio	Hierro	Magnesio	Cenizas	% Humedad
	658	89,8	1411	3,31%	10,57%
	708	93,8	1473	3,35%	10,05%
	660	84,3	1467	3,21%	9,84%
	700	102,9	1472	3,42%	
	627	92,8	1470	3,27%	
Promedio	***671***	***93***	***1459***	***3,31%***	***10,15%***
Desv.est	***33***	***7***	***27***	***0,08%***	***0,38%***
Coef.var.	5,0%	7,3%	1,8%	2,4%	3,7%

Donde: Desv Est: desviación estándar. Coef. Var: Coeficiente de variación

Tabla 19. *Datos obtenidos de pesos de crisoles, cenizas y concentración de micronutrientes*

Harina	# Crisol	W crisol (g)	W c + muestra (g)	W c + ceniza (g)	% cenizas	Cantidad de harina (g)	[□g Fe/g]	[□g Ca/g]	[□g Mg/g]
Chocho	1	24,9021	25,5022	24,9293	4,53 %	0,6001	117,7	431,9	2663,5
	2	26,0915	26,6947	26,1191	4,58 %	0,6032	157,0	550,3	2535,9
	3	25,9685	26,5753	25,9954	4,43 %	0,6068	128,4	499,1	2756,2
	4	24,7335	25,3384	24,7619	4,69 %	0,6049	163,8	371,5	2477,2
	5	23,6864	24,2883	23,7127	4,37 %	0,6019	120,3	395,1	2611,7
	6	25,3720	25,9777	25,3983	4,33 %	0,6057	119,0	471,0	2612,0
	7	24,8909	25,4930	24,9171	4,36 %	0,6021	124,9	499,8	2334,6
	8	25,3086	25,9109	25,3346	4,32 %	0,6023	117,9	460,3	2334,0
	9	25,3504	25,9572	25,3777	4,50 %	0,6068	122,4	527,2	2771,3
	10	25,1676	25,7774	25,1946	4,44 %	0,6098	119,5	503,5	2770,0
Gandul verde	1	24,8992	25,5573	24,9241	3,78 %	0,6581	45,8	6239,8	1318,5
	2	26,0905	26,6965	26,1144	3,94 %	0,6060	51,5	6175,6	1349,3
	3	25,9654	26,5648	25,9884	3,84 %	0,5994	45,4	5940,0	1278,0
	4	24,7323	25,3139	24,7550	3,90	0,5816	43,4	7373,4	1328,2

					%				
	5	23,6871	24,3036	23,7113	3,93 %	0,6165	43,3	6328,7	1404,8
	6	25,3469	25,9887	25,3724	3,97 %	0,6418	49,7	5902,0	1301,7
	7	24,8868	25,4820	24,9092	3,76 %	0,5952	62,6	6364,1	1376,5
	8	25,3051	25,9086	25,3284	3,86 %	0,6035	47,6	6653,5	1317,4
	9	25,3688	25,9984	25,3943	4,05 %	0,6296	51,8	6088,6	1324,3
	10	25,1661	25,7698	25,1887	3,74 %	0,6037	44,2	6726,7	1434,6
Gandul maduro	1	25,5630	26,1627	25,5883	4,22 %	0,5997	53,2	4761,1	1236,9
	2	25,6789	26,2515	25,7032	4,24 %	0,5726	53,2	4390,5	1256,0
	3	24,8861	25,4887	24,9127	4,41 %	0,6026	52,6	5380,0	1214,9
	4	24,8784	25,4772	24,9037	4,23 %	0,5988	49,4	4768,3	1368,2
	5	25,0511	25,6606	25,0780	4,41 %	0,6095	57,1	4721,9	1174,7
	6	25,8768	26,4827	25,9027	4,27 %	0,6059	56,4	3961,5	1213,6
	7	25,1578	25,6698	25,1791	4,16 %	0,5120	76,1	4066,0	1225,0
	8	24,5708	25,1044	24,5932	4,20 %	0,5336	48,3	4882,0	1151,2
	9	24,5559	25,1453	24,5813	4,31 %	0,5894	50,0	4767,1	1176,4

	10	25,1346	25,7436	25,1611	4,35 %	0,6090	67,9	4501,7	1207,5
Zarandaja Prov 1	1	24,9022	25,5134	24,9258	3,86 %	0,6112	76,9	1274,5	2698,5
	2	26,0936	26,6887	26,1162	3,80 %	0,5951	71,1	1165,8	1776,5
	3	25,9682	26,5692	25,9918	3,93 %	0,6010	80,0	1214,1	1822,7
	4	24,7350	25,3282	24,7574	3,78 %	0,5932	73,5	1124,2	1881,5
	5	23,6867	24,2651	23,7096	3,96 %	0,5784	77,8	1339,0	1883,8
	6	25,3725	25,9606	25,3951	3,84 %	0,5881	77,8	1233,1	1747,5
	7	24,8907	25,5439	24,9159	3,86 %	0,6532	113,7	1123,9	1807,9
	8	25,3086	25,9220	25,3323	3,86 %	0,6134	76,3	1306,5	1814,7
	9	25,3499	25,9465	25,3725	3,79 %	0,5966	73,8	1343,3	1836,2
	10	25,1688	25,7724	25,1925	3,93 %	0,6036	104,3	1238,6	1814,9
Zarandaja Prov 2	1	23,7159	24,3079	23,7358	3,36 %	0,5920	95,5	794,1	1336,5
	2	15,7816	16,3725	15,8008	3,25 %	0,5909	84,0	522,3	1485,2
	3	24,8885	25,4893	24,9088	3,38 %	0,6008	89,9	733,2	1444,4
	4	24,8808	25,4782	24,9006	3,31 %	0,5974	97,7	683,3	1501,9
	5	25,0513	25,6444	25,0703	3,20	0,5931	83,2	769,9	1522,8

					%				
	6	25,8758	26,4713	25,8949	3,21 %	0,5955	85,3	549,9	1411,1
	7	25,1603	25,7781	25,1815	3,43 %	0,6178	118,5	604,1	1496,9
	8	24,5667	25,1569	24,5868	3,41 %	0,5902	87,2	796,5	1447,1
	9	24,5574	25,1532	24,5773	3,34 %	0,5958	100,3	698,7	1509,3
	10	25,1360	25,7398	25,1553	3,20 %	0,6038	85,4	555,7	1430,7

Donde: W: masa, Wc: masa de crisol, %: Ceniza/100g de muestra,

ANEXO F

Extracción de invertasa

- Disolver con agitación moderada, 14 g de levadura en polvo en 50 mL solución de bicarbonato de sodio en un frasco con tapa de 100 mL.
- Mantener la agitación por 1 hora e incubar en un baño termostatizado a 35 °C por 15 h.
- Transcurrido este tiempo, destapar el frasco con cuidado, eliminar los gases formados.
- Refrigerar la suspensión de levadura en un baño con hielo y viértir en cuatro tubos de centrífuga de 15 mL.
- Centrifugar por 30 min a la graduación 8,5 en la centrífuga de tapa anaranjada de Análisis de Alimentos.
- Recuperar el sobrenadante y almacenar a -80 ºC.

ANEXO G

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 ^{o}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.