

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Efecto del proceso de desamargado y fermentado en el contenido de fibra dietética y almidón en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Criollo y Guaranguito INIAP 451).

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada
en Ciencias Químicas con Mención en Química Analítica**

XIOMARA CRISTINA JÁCOME RAMÍREZ

Quito, 2017

CERTIFICACIÓN

Certifico que la presente Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, con mención en Química Analítica de la Srta. Xiomara Cristina Jácome Ramírez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la revisión correspondiente.

Mst. Gabriela Cueva

Directora de la Disertación

Quito, 29 de septiembre del 2017

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por haberme dado la fuerza para seguir adelante y a mis padres por siempre apoyarme a lo largo de mi carrera universitaria.

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por darme la oportunidad de ser una profesional.

A mis maestros por todo lo que me han enseñado.

A mi directora de tesis, Mst. Gabriela Cueva, por ser una guía y porque con su experiencia y motivación me ha ayudado a terminar mis estudios.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, en especial a la Ing. Elena Villacrés, por haberme permitido realizar mi proyecto de tesis en sus instalaciones y por haberme apoyado en todo lo que necesitaba.

A mis padres por ser siempre un apoyo, por darme la oportunidad de estudiar.

A mis amigos por todos los buenos momentos que hemos compartido.

LISTA DE ABREVIATURAS

AR: Almidón resistente

AT: Almidón Total

CV: Coeficiente de variación

FDT: Fibra dietética total

FDS: Fibra dietética soluble

FDI: Fibra dietética insoluble

FDC: Fibra dietética corregida

FIC: Fibra insoluble corregida

FSC: Fibra soluble corregida

INIAP: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

INIAP-EESC: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias- Estación Santa Catalina

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
TABLA DE CONTENIDOS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE ANEXOS	xi
1.RESUMEN	1
2.ABSTRACT	2
3.INTRODUCCIÓN	3
3.1 EL CHOCHO (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet)	3
3.2 PROCESO DE DESAMARGADO DEL CHOCHO.....	7
3.3 PROCESO DE FERMENTADO DEL CHOCHO	8
3.4 BENEFICIOS DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS	9
3.5 FIBRA	11
3.6 ALMIDÓN.....	13
3.7 ENZIMAS.....	15
3.8 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FIBRA DIÉTETICA Y ALMIDÓN	16
3.9 GRANOS ANDINOS DEL ECUADOR.....	18
3.10 OBJETIVO GENERAL.....	18
3.10.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1 MATERIALES.....	20

4.2 MÉTODOS	20
4.2.1 DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN TOTAL MEDIANTE POLARIMETRÍA.....	20
4.2.2 DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE ADAPTADO DEL MÉTODO AOAC 200.02 Y MÉTODO AACC 32-40.01	23
4.2.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL ADAPTADO POR EL INIAP DEL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32-07 (APROBACIÓN FINAL 10-16-91)	27
4.2.4 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE ADAPTADO POR EL INIAP DEL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32- 07(APROBACIÓN FINAL 10-16-91).....	30
4.2.5 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA INSOLUBLE ADAPTADO POR EL INIAP DEL EL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32-07(APROBACIÓN FINAL 10-16-91).....	32
4.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5.1. ALMIDÓN TOTAL Y RESISTENTE.....	35
5.2 FIBRA DIETÉTICA TOTAL, SOLUBLE E INSOLUBLE	40
6. CONCLUSIONES	47
7. RECOMENDACIONES	49
8. BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXOS	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Planta y granos de chocho.....	3
Figura 2 Etapa de cocción de los granos	8
Figura 3: Etapa de lavado de los granos	8
Figura 4: Hongo <i>Rhizopus oligosporus</i>	9
Figura 5: Tempeh (soya fermentada).....	10
Figura 6: Conformación helicoidal de la amilosa (izquierda) y estructura de la amilopectina (derecha)	13
Figura 7: Modelo Llave-cerradura de las enzimas.....	16
Figura 8: Modelo de ajuste inducido de las enzimas.....	16
Figura 9: Muestras de chocho en baño de agua hirviente	21
Figura 10: Muestras en el polarímetro ATAGO POLAX 2L.....	22
Figura 11: Aglomerados formados después de la suspensión con etanol	23
Figura 12: Muestras en baño de agua con hielo.....	24
Figura 13: Muestras en baño maría a 50°C	25
Figura 14: Muestras con reactivo de color GOPOD.....	25
Figura 15: Espectrofotómetro UV THERMO SCIENTIFIC	26
Figura 16: Muestras en baño de aguas hirviente	27
Figura 17: Muestras en baño maría con agitación continua.	28
Figura 18: Crisoles en estufa MEMERT.....	29
Figura 19: Muestras con residuo de FDT en la estufa.....	29
Figura 20: Crisol Gooch con residuo de FDS	33

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Información acerca de las tres variedades de chocho.....	6
Tabla 2: Análisis Bromatológico de las tres variedades de chocho analizadas.....	6
Tabla 3: Porcentaje de almidón total obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.....	35
Tabla 4: Porcentaje de almidón resistente obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.....	38
Tabla 5: Datos utilizados para el cálculo del porcentaje de almidón resistente en las tres variedades de chocho.	39
Tabla 6: Porcentaje de fibra dietética total en las tres variedades de chocho en los granos analizados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.....	40
Tabla 7: Porcentaje de fibra dietética soluble en las tres variedades de chocho en los granos estudiados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.	43
Tabla 8: Porcentaje de fibra dietética insoluble en las tres variedades de chocho en los granos estudiados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.....	45
Tabla 9: Porcentaje de fibra dietética total obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.	59
Tabla 10: Porcentaje de fibra dietética soluble obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.....	61
Tabla 11: Porcentaje de fibra dietética insoluble obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.....	61

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Preparación de soluciones	55
Anexo 2: Resultados obtenidos en los ensayos de fibra dietética total, soluble e insoluble	59
Anexo 3: Análisis estadístico	62
Anexo 4: Cálculos	68

1. RESUMEN

Se determinó el contenido de almidón total, resistente y de fibra dietética total, soluble e insoluble en tres variedades de chocho: Criollo, INIAP 450 Andino e INIAP 451 Guaranguito; los análisis se realizaron en los granos amargos, desamargados y fermentados para determinar el efecto de estos tratamientos en los parámetros mencionados. Para la determinación de almidón total se utilizó el método polarimétrico y se encontró que los chochos amargos presentan un contenido de almidón alrededor del 3 %, el cual disminuyó en los granos desamargados alrededor de 1.70 % y en los granos fermentados aumentó ligeramente, contrario a lo que se esperaba. En la determinación de almidón resistente se utilizó un método enzimático, en el que este fue transformado a D-glucosa mediante la acción de algunas enzimas, se encontró que tanto en los granos amargos, desamargados y fermentados el contenido de almidón resistente era menor al 1%. Para la determinación de fibra dietética total, soluble e insoluble se utilizó un método enzimático-gravimétrico en el que el contenido de fibra se determinó mediante diferencia de pesos con los respectivos residuos. Se observó que las tres variedades de chocho tanto amargos, desamargados y fermentados presentaron un alto contenido de los tres tipos de fibra, casi el doble del contenido de otros alimentos como la quinua, el amaranto y el sangorache. El contenido de fibra total en los chochos está entre el 40 - 50 %, la fibra soluble alrededor de 2 % y la fibra insoluble 40 -50 % ya que es la mayor fracción de la fibra total. En base a los resultados obtenidos se puede concluir que el chocho a pesar de no ser una fuente significativa de almidón aporta una importante cantidad de fibra, por lo que se recomienda incluirlo en la dieta diaria para obtener todos los beneficios que ésta aporta a la salud.

Palabras clave: almidón, chocho, fibra, proceso de desamargado, proceso de fermentado.

2. ABSTRACT

The total and resistant starch content and total, soluble and insoluble dietary fiber were determined in three varieties of lupine: Criollo, INIAP 450 Andino and INIAP 451 Guaraguito; the analyzes were carried out on the bitter, debittered and fermented grains to determine the effect of these treatments on the mentioned parameters. For the determination of total starch the polarimetric method was used and it was found that the bitter grains present a starch content around 3 %, which decreased in the debittered grains around 1.70 % and in the fermented grains increased slightly, contrary to what was expected. In the determination of resistant starch was used an enzymatic method, in which it was transformed to D-glucose by the action of some enzymes, it was found that in all bitter, debittered and fermented grains the resistant starch content was less than 1 %. For the determination of total, soluble and insoluble dietary fiber, an enzymatic-gravimetric method was used in which the fiber content was determined by weight difference with the respective residues. It was observed that three bitter, debittered and fermented varieties showed a high content of the three types of fiber, almost double the content of other foods such as quinoa, amaranth and sangorache. The total fiber content in lupine is between 40-50 %, soluble fiber around 2 % and insoluble fiber 40-50 % since it is the largest fraction of the total fiber. Based on the results obtained it is possible to conclude that the lupine despite not being a significant source of starch, contributes an important amount of fiber, so it is recommended to include it in the daily diet in order to obtain all the benefits that this contributes to the health.

Key words: debittering process, fermentation process, fiber, lupine, starch.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 EL CHOCHO (*Lupinus mutabilis* Sweet)

El chocho o como se lo conoce en otros lugares: Tarwi, tauri, lupino, talwish es una leguminosa del tipo *Lupinus mutabilis* Sweet, es ampliamente distribuido en varias partes del mundo, incluyendo Ecuador, ver Figura 1. Existen varios tipos de chocho entre los cuales se encuentran *Lupinus cuzcensis*, *L. tomentosus*; *L. microphyllus*, *L. paniculatus*, *L. aridulus*, *L. ananeanus*, *L. condensiflorus*, *L. chlorolepis*, *L. tarapacensis*, *L. subferuquinous*, *L. dora*, *L. macbrideanus*, *L. ballianaus*, *L. gilbertianus* y *L. eriucladus*, ver Figura 1, Al igual que la especie de chocho más conocida, *Lupinus mutabilis* Sweet, a estas especies también se le atribuyen propiedades nutritivas y medicinales (Jacobsen & Mujica, 2006).



Figura 1: Planta y granos de chocho (Castañeda, 2013)

Existen diferentes minerales que están presentes en el chocho como el calcio con un 0.48 % de concentración, éste es importante para el crecimiento de dientes y huesos y se encuentra principalmente en la cáscara del grano, por lo que se recomienda el consumo del mismo sin pelar. Otro mineral que se encuentra en los granos de chocho es el fósforo, con un 0.43 % de concentración y es importante para el mantenimiento del sistema óseo, producción de energía y una correcta actividad del músculo cardíaco. El hierro también

está en el chocho con una concentración de 78.45 ppm, este mineral es importante para la producción de hemoglobina y transporte de oxígeno en la sangre (Ministerio coordinador de conocimiento y talento humano, 2017).

Además de minerales, el chocho es una fuente de fibra, proteína, carbohidratos como el almidón y vitaminas como la B2, B3 y C o ácido ascórbico (Leonel, 2012). La cantidad de proteína y aceites presentes en el chocho representa la mitad del peso de la semilla. Posee aproximadamente entre el 30-40 % de proteína, valor elevado a comparación de la soya; recién cosechado amargo posee una cantidad de fibra bruta correspondiente al 11.07 % y en el chocho desamargado es del 10.37 %; en lo que respecta al almidón, el chocho posee una cantidad total correspondiente al 4.34 % en el grano amargo y 2.88 % en el desamargado (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 2006).

Sin embargo en las investigaciones existentes no se cuenta con la diferenciación en las cantidades de fibra soluble e insoluble, y se tienen solamente las cantidades de almidón total en el grano amargo y desamargado, faltando el chocho fermentado, y sin determinar la cantidad de AR. Es así que se debe examinar si en estos tratamientos que se hacen al chocho, las cantidades de fibra insoluble y soluble y el almidón resistente se alteran en relación al grano recién cosechado.

El chocho no se consume directamente debido al sabor amargo que posee por la presencia de alcaloides y también por la textura que tiene al ser cosechado (Pérez del Pozo, 2013). Debido a esto es necesaria una etapa de desamargado en la cual se elimina estos anti-nutrientes que son los responsables de estas características. Se debe recalcar que este proceso es indispensable ya que el consumo del chocho sólo se realiza después de esta etapa, por lo cual es importante determinar si el proceso de desamargado altera las propiedades nutritivas del grano (Chirinos-Arias, 2015).

En lo que respecta al chocho fermentado, es producido mediante el crecimiento del moho del género *Rhizopus oligosporus* sobre el grano desamargado pelado o molido con 60 % de humedad, durante 24 horas y a 31 °C. En este proceso la cantidad de fibra bruta del chocho fermentado molido y con cáscara es del 9.97 % mientras que sin cáscara es del 3.45 %, este tipo de chocho no es consumido por la población en general, sin embargo se investiga si podrían obtener productos similares al tempeh o fermentado de soya para ciertas preparaciones (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 2006).

En el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias- Estación Santa Catalina (INIAP-EESC), se estudian y cultivan algunas variedades de chocho entre las cuales están: Criollo, Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451, que son del género *Lupinus mutabilis Sweet*. Estas dos últimas variedades de granos son de origen externo (Perú), cultivadas en el país y mejoradas para su reproducción y producción por lo que es importante determinar mayores características de este grano adaptado a nuestro medio (Caicedo, Murillo, Pinzón, Peralta & Rivera, 2010; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2010).

No existe una información exacta acerca de cuál de las tres variedades de chocho se consume en mayor cantidad en el país, sin embargo la variedad Andino INIAP 450 es la que más se produce debido a que su semilla es la más utilizada, por otro lado la variedad Guaranguito 451 se produce en mayor cantidad en la provincia de Bolívar debido a que esta variedad fue diseñada para el tipo de suelo que existe en esta zona. Finalmente la variedad Criollo la utilizan los agricultores de las zonas rurales en las que no existe conocimiento de las otras variedades, los agricultores siembran esta semilla y dejan una parte para volver a sembrar. Es importante destacar que la variedad Criollo tiene un ciclo de cosecha más largo, puede demorar más de un año, mientras que las variedades modificadas por el INIAP tienen un ciclo de cosecha entre 6-8 meses (Caicedo et al., 2010; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2010).

En las Tablas 1 y 2 se puede observar información más detallada acerca de las tres variedades de chocho que fueron analizadas.

Tabla 1: Información acerca de las tres variedades de chocho analizadas

Variedad	Hábito	Días floración	Días cosecha	Color grano	Peso 100 semilla (g)	Rendimiento Promedio (kg/ha)	Altitud óptima (m)
INIAP 450 Andino	Herbácea basal erecta	100	200	crema	30	1350	2600-3400
INIAP 451 Guaranguito	Herbácea basal erecta	80	171	Blanco	28	1398	2200-3600
Criollo	Herbácea basal erecta	110	300	Blanco	27	1400	2600-3700

Nota: Adaptado de Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

Tabla 2: Análisis Bromatológico de las tres variedades de chocho analizadas

PARÁMETRO	VARIEDAD DE CHOCHO			
	ANDINO 450	INIAP	GUARANGUITO INIAP 451	CRIOLLO
Proteína (%)	45,02		42,7	47,80
Fibra cruda (%)	10,31		9,4	11,07
Grasa (%)	19,07		26,7	18,90
Calcio (%)	0,14		0,11	0,12
Azúcares totales (%)	6,45		-----	1,95
Almidón total (%)	2,99		-----	4,32

Nota: Adaptado de “INIAP 451 Guaranguito, nueva variedad de chocho para la provincia de Bolívar” Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (Julio de 2010); “Usos alternativos del chocho. *Chucho (Lupinus mutabilis Sweet) Alimento andino Redescubierto*” Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (Junio de 2006).; “INIAP-450 Andino: Variedad de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*).

”Caicedo, C., Murillo, A., Pinzón, J., Peralta, E., & Rivera, M. (2010).

3.2 PROCESO DE DESAMARGADO DEL CHOCHO

De acuerdo a la norma INEN 2390:2004 se define como chocho desamargado “el producto comestible limpio húmedo, que ha sido sometido a un proceso de desamargamiento (térmico-hídrico), de color predominantemente blanco-crema, sabor y olor característico, libre de olores extraños y del sabor amargo”.

El proceso de desamargado del chocho consta de varias etapas: hidratación, cocción, lavado y conservación. En el proceso de hidratación se colocan los granos en un tanque que contiene agua potable, los granos de chocho quedan sumergidos por 16 horas. En la etapa de cocción, los granos hidratados se colocan en ollas y se procede a cocinar durante 40 minutos; ver Figura 2. Una vez transcurrido este tiempo se lava con agua potable a una temperatura de 40 °C, ver Figura 3.

Antes de que los granos puedan ser consumidos es necesario realizar una etapa de cloración añadiendo 7,5 kg de hipoclorito de calcio por cada 2500 litros de agua, después se realiza un segundo lavado en el cual el agua está en contacto con el grano por 72 horas para eliminar los alcaloides que tiene el chocho. En esta etapa se debe controlar la agitación, la cloración y la temperatura del agua. Durante las 72 horas se realizan tres lavados cambiando el agua cada 8 horas el primer día y a las 16 horas del segundo día; una vez terminado el proceso de lavado es aconsejable dejar los granos en agua fría hasta su almacenamiento y/o consumo (Caicedo, Peralta, Elena, & Rivera, 2001).



Figura 2: Etapa de cocción de los granos (Alternativa ecológica, 2012)



Figura 3: Etapa de lavado de los granos (Alternativa ecológica, 2012)

3.3 PROCESO DE FERMENTADO DEL CHOCHO

La fermentación sólida es un proceso que consiste en el crecimiento de microorganismos en medios sólidos en ausencia de agua, ya que esta se encuentra dentro de la matriz a fermentar, este proceso ocurre en un estado no aséptico y natural. En la actualidad existe un interés en la producción de alimentos naturales fermentados en los cuales no se requieren derivados sintéticos ya que durante este proceso se genera naturalmente ácido acético y ácido láctico haciendo que la incidencia de patógenos sea menor y su calidad nutritiva mejore. Adicionalmente el proceso de fermentación cambia la textura y el sabor de los granos, aumenta el contenido de proteína, carbohidratos, lípidos y ayuda a la liberación de vitaminas lo que mejora el valor nutritivo del alimento (Munguia, Reyes, Espinosa, Navarro, & Melgoza).

El proceso de fermentación sólida del chocho consiste en hacer crecer un hongo del tipo *Rhizopus oligosporus*, ver Figura 4, sobre los granos molidos y que presentan 60 % de humedad. El hongo pertenece a un género de mohos que se hallan en el suelo y que se encargan de degradar frutas, vegetales y residuos. Estos mohos tienen una gran adaptación al medio en el que se encuentran y también una alta capacidad de síntesis bioquímica, además de un alto potencial enzimático por lo cual pueden ser agentes de transformación muy útiles (Pelayo, 2011).

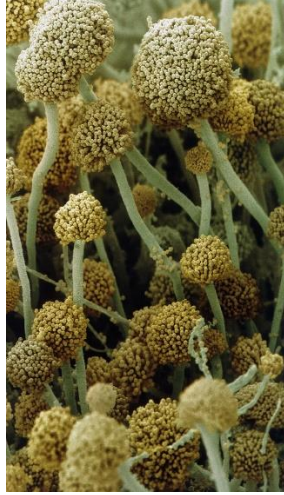


Figura 4: Hongo *Rhizopus oligosporus* (The Telegraph, s.f)

La fermentación del chocho se realiza incubando el grano desamargado durante 24 horas a una temperatura de 31 °C. Por cada 100 gramos de grano se necesita un gramo del hongo retenido en harina de arroz; es recomendable colocar los granos molidos en bandejas de aluminio para obtener un producto de mejor calidad (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 2006).

3.4 BENEFICIOS DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS

La fermentación de alimentos ha sido utilizada desde hace varios años como un medio de conservación; recientemente ha tenido un gran impacto debido a las bacterias benéficas que surgen con este proceso. Este tipo de bacterias se conocen como probióticos, los cuales ayudan a reestablecer el equilibrio del sistema inmunológico, mediante la formación de ácidos de cadena corta, además ayudan a combatir bacterias dañinas (Wacher, 2014).

Estas bacterias convierten a los carbohidratos y los azúcares en ácido láctico, que conserva los alimentos y les da un sabor fuerte. No todos los alimentos fermentados tienen las mismas bacterias, lo que quiere decir que unos son más beneficiosos que otros, por lo cual se recomienda variar el consumo de alimentos fermentados, algunos ejemplos son:

tempeh (soya fermentada), ver Figura 5, el kimchi o chucrut (col fermentada), kéfir (yogurt búlgaro), entre otros. (Roxby, 2016).



Figura 5: Soya fermentada (Tempeh) (The Healthy TART, s.f)

En el país no existe una costumbre de consumir alimentos fermentados como los mencionados anteriormente, por lo cual no existen muchos estudios acerca de los beneficios de estos alimentos. Los chochos fermentados son una fuente importante de fibra, proteína y de vitamina B3 por lo que debería ser incluido en la alimentación; sin embargo este tipo de alimentos no son del agrado de muchas personas debido al sabor fuerte y el olor que tienen luego de ser sometidos al proceso de fermentación, por lo cual es importante buscar alternativas para consumir este alimento (Ecoosfera 2016).

Existe la opción de consumir los granos de chocho fermentados fritos, ya que poseen un sabor agradable similar al de la carne, o también se puede elaborar una pasta con consistencia similar a la carne a base de los chochos fermentados, lo que es una nueva alternativa para las personas vegetarianas (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 2006).

Como se mencionó anteriormente, el proceso de fermentación del chocho se realiza para mejorar el perfil nutricional y las características sensoriales del grano, el cual se deprime con el proceso de desamargado. En un futuro el INIAP piensa incorporar este producto en otras matrices alimentarias para mejorar el valor nutricional, por lo cual es importante realizar estudios que indiquen cuál es el efecto de este proceso en el chocho y determinar el potencial nutritivo de esta nueva alternativa de esta leguminosa e incrementar su consumo. Actualmente el INIAP está desarrollando una pasta untable (tipo

humus) con base al grano fermentado, la cual es de textura suave, buen sabor y olor, diferente al grano desamargado fresco.

En el presente trabajo se comparan los resultados obtenidos en el contenido de almidón y fibra dietética en los chochos fermentados con el tempeh ya que la soya es una leguminosa con características similares a las del chocho y en la actualidad es muy utilizada en la alimentación sobre todo de las personas vegetarianas.

3.5 FIBRA

La fibra es un tipo de carbohidrato que no puede ser asimilado por el cuerpo, por lo cual pasa intacto a través del tracto digestivo. La fibra está constituida por componentes no digeribles de las paredes celulares de los vegetales dentro de los cuales se encuentran: celulosa, hemicelulosa, pectinas y lignina; todos estos polímeros no se encuentran de forma natural en alimentos de origen animal ya que son exclusivos de los vegetales (Villacres, 2013).

Es importante diferenciar entre fibra cruda y fibra dietética, la primera se refiere al residuo que resulta después del tratamiento de los alimentos con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio. En este proceso se pierde una fracción de polímeros que sí forman parte de la fibra dietética; durante estos tratamientos se disuelven algunos componentes de la fibra y por esto el contenido de fibra cruda es menor al de la fibra dietética que representa al contenido total de los polímeros que se mencionaron anteriormente (Badui Dergal, 2006).

Existen dos tipos de fibra: soluble e insoluble, cada una posee diferentes funciones y proviene de diferentes fuentes de alimentos. La fibra insoluble posee una escasa viscosidad y una baja fermentabilidad en el colon, es capaz de retener agua en la matriz estructural por lo cual aumenta la velocidad del tránsito intestinal produciendo un efecto laxante, que limpia los intestinos (Genes, 2013). Por otro lado la fibra soluble al

entrar en contacto con el agua forma un retículo en el cual queda atrapada convirtiéndose en un líquido viscoso. Al llegar al intestino grueso se fermenta produciendo ácidos grasos de cadena corta que tienen efectos beneficiosos en la microflora del colon (Alva, 2013).

La función principal de la fibra insoluble es el mantenimiento normal del tránsito intestinal debido a su poder laxante, evitando así los problemas de estreñimiento y las consecuencias negativas del mismo como dolor abdominal y hemorroides. Además la fibra insoluble produce una sensación de saciedad evitando que se consuma una cantidad de comida en exceso, lo cual ayuda a prevenir el sobrepeso; algunos alimentos que contiene fibra insoluble son: arroz integral, salvado de trigo, maíz y vegetales como la zanahoria, apio, espinaca, entre otros (Pérez, s.f.).

La fibra soluble genera que el tránsito intestinal sea más lento permitiendo la absorción de nutrientes de los alimentos y mejora el control de glucosa en la sangre, disminuyendo la glucemia lo que es de gran importancia en las personas con diabetes y además es importante para la prevención del sobrepeso; existen estudios que indican que la fibra soluble también ayuda a la disminución del colesterol reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Algunos alimentos que tienen fibra soluble son: leguminosas, salvado de avena, nueces, coles y frutas como la naranja, manzana y fresas (Cordero, 2013).

La importancia de consumir fibra en la dieta diaria fue puesta de manifiesto hace varios años por lo cual se han hecho diversos estudios que relacionan la ausencia de fibra en la dieta con varios problemas de salud, como por ejemplo: constipación, colitis, hemorroides, cáncer en el colon, diabetes, aterosclerosis, entre otros (Villacres, 2013).

Como se mencionó anteriormente la característica principal de la fibra es su capacidad de hincharse al absorber agua, aumentando el volumen de la materia fecal y provocando un incremento en los movimientos peristálticos del intestino facilitando el tránsito, y por lo tanto la defecación; es decir, su acción primaria se lleva a cabo en el

colon del ser humano provocando un incremento de la viscosidad y asegurando que únicamente las moléculas fácilmente absorbibles atraviesen la pared intestinal; aquellas sustancias que son dañinas y tóxicas se eliminan en las heces (Badui Dergal, 2006).

3.6 ALMIDÓN

El almidón es un carbohidrato importante en la dieta desde hace varios años, después de la celulosa, el almidón es el polisacárido más abundante e importante para la industria. Se puede encontrar almidón en tubérculos y frutas como reserva de energía; este se encuentra formado por la mezcla de dos polisacáridos: amilosa y amilopectina; la primera se produce por la condensación de D-glucopiranosas y tiene la capacidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal en la que los hélices están formados por seis moléculas de glucosa (Calvo, s.f.)

La amilopectina tiene ramificaciones similares a las de un árbol, su peso molecular es muy alto debido a que algunas fracciones pueden tener 200 millones de daltones. Las ramificaciones de la amilopectina se encuentran unidas a un tronco central por enlaces α -D (1,6) cada 15 a 25 unidades de glucosa. Generalmente los almidones están formados en un 17-27% de amilosa y el resto es amilopectina, ver Figura 6 (Badui Dergal, 2006).

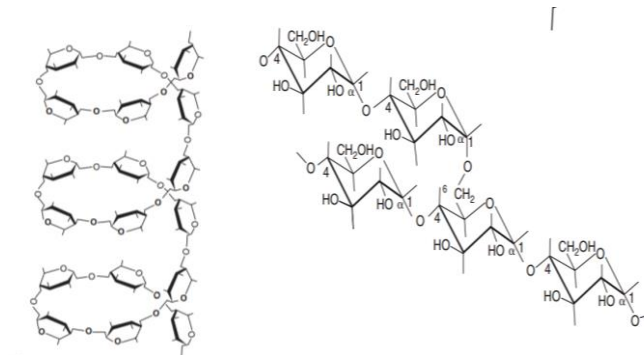


Figura 6: Conformación helicoidal de la amilosa (izquierda) y estructura de la amilopectina (derecha)(Badui Dergal, 2006).

El almidón es una importante fuente de energía y una gran variedad de nutrientes en la dieta. Al consumir alimentos ricos en almidón se incorporan vitaminas y minerales, y éste interviene en la alimentación celular que permite el desarrollo de nuevas células y ayuda al funcionamiento de las mismas (Tecnología y Alimentos, 2008).

De todo el almidón existente, una parte es resistente a la digestión, denominado almidón resistente (AR); el almidón debe estar completamente despolimerizado a glucosa antes de que se pueda absorber en el intestino grueso, esta etapa de despolimerización se realiza con enzimas que se encargan de romper los enlaces glucósidicos; sin embargo no todo el almidón es degradado a glucosa y absorbido en el intestino delgado sino que fracciones de almidón que resisten la digestión, las cuales son digeridas y fermentadas en el intestino grueso y se denominan como AR. La actualidad el almidón resistente ha adquirido gran importancia en la nutrición ya que se le ha relacionado con la reducción en el consumo de calorías y el índice glicémico, estimulación de la microflora intestinal benéfica y prevención de algunas enfermedades cardiovasculares (Jiménez, González, Magaña, & Corona, 2011).

El almidón resistente se clasifica en cuatro tipos:

- El almidón resistente tipo 1 (AR1), es el almidón que es físicamente inaccesible, se encuentra en alimentos en base a almidón los cuales no han sido refinados, en su mayoría en legumbres y ciertos cereales.
- El almidón resistente tipo 2 (AR2), se refiere a los gránulos nativos que no han sido sometidos a un proceso de cocción, se caracteriza por tener alta resistencia a la gelatinización y limitada accesibilidad de las enzimas digestivas
- El almidón resistente tipo 3 (AR3), se refiere al almidón retrogradado que se forma en los alimentos que han sido cocinados y almacenados, la retrogradación ocurre cuando los almidones son gelatinizados y enfriados o se mantienen a temperatura ambiente

- El almidón resistente tipo 4 (AR4), es el almidón que ha sido elaborado por métodos químicos, los más comunes son esterificación, eterificación y entrecruzamiento (Información, 2015).

El almidón resistente se puede encontrar de forma natural en frutas, leguminosas y en tubérculos; en su estado natural el almidón se encuentra organizado en partículas llamadas gránulos en los que la morfología, composición química y estructura van a depender de la especie vegetal en la que se encuentre (Vera, Gonzáles, Magaña, & Corona, 2011).

3.7 ENZIMAS

Las enzimas son catalizadores biológicos de las reacciones químicas, las cuales se diferencian de los catalizadores normales en diversos aspectos como: aumentan la velocidad de reacción en el orden de 10^6 - 10^{12} veces con respecto a las reacciones que no son catalizadas por estas. Las enzimas trabajan en condiciones de reacción moderadas, es decir a temperaturas menores a 100°C , presión atmosférica y en pH neutro y tienen un mayor grado de especificidad con sus sustratos, es decir la molécula sobre la cual trabaja la enzima (Ramírez & Ayala, 2014).

Son proteínas globulares con tamaño variable y su actividad está relacionada con su estructura tridimensional la cual a su vez está determinada por la secuencia de aminoácidos. Son muy específicas, ya que la enzima y el sustrato son complementarias geométricamente por lo que este modelo se conoce como “llave-cerradura”, ver Figura 7. Existe una modificación de este modelo conocido como “ajuste inducido”; en el que las enzimas, al ser flexibles, cambian su conformación estructural por la interacción con el sustrato; como resultado de esta modificación la cadena de aminoácidos del sitio activo se moldea en una forma precisa para que la enzima lleve a cabo su acción catalítica, ver Figura 8 (Voet & Voet, 2006).

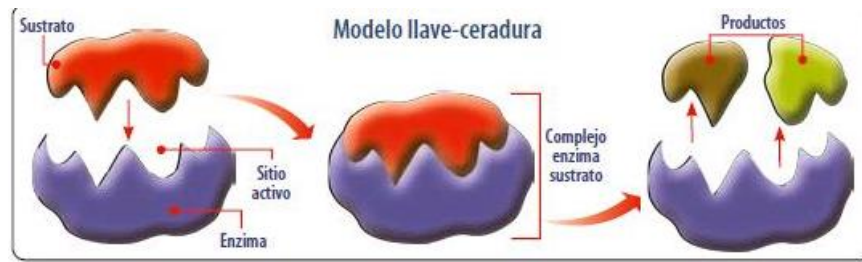


Figura 7: Modelo llave-cerradura de las enzimas (Zuñiga, 2011)

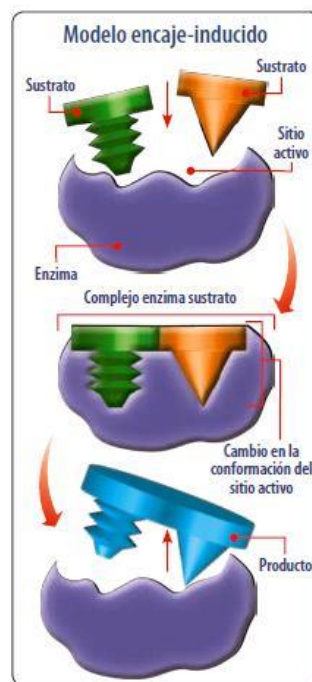


Figura 8: Modelo de ajuste inducido de las enzimas (Zuñiga, 2011)

3.8 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FIBRA DIÉTETICA Y ALMIDÓN

Existen varios métodos para la determinación de fibra dietética. Dentro de los más utilizados están los métodos gravimétricos en los que se utiliza una serie de tratamientos enzimáticos y químicos que son seguidos de una precipitación de la fibra utilizando etanol al 80% para aislar el residuo fibroso. En el tratamiento con enzimas la fibra dietética se gelatiniza, se hidroliza y se despolimeriza el almidón mediante la adición de α -amilasa y la aplicación de calor a las muestras, luego se añade proteasa y se coloca las muestras en incubación a 60 °C para solubilizar y despolimerizar las proteínas; finalmente se añade

amiloglucosidasa para hidrolizar los fragmentos de almidón a glucosa. El material que no es digerible se separa por filtración y se determina el contenido de fibra dietética mediante diferencia de peso entre los crisoles con el residuo y los crisoles vacíos (Megazyme, 2011).

Además existen otros métodos en los que se aportan datos composicionales, luego de la remoción del material fibroso; los polisacáridos de la pared celular se hidrolizan utilizando ácido sulfúrico y los azúcares son identificados y cuantificados mediante cromatografía de gases. Por otro lado los azúcares de la pared celular y los ácidos galacturónico y glucurónico se miden colorimétricamente (Segura, Echeverri, Patiño, & Mejía, 2007).

La actividad óptica rotatoria de una sustancia se debe a la asimetría estructural de las moléculas, por lo que para la determinación de almidón existen métodos como el polarimétrico que es basado en la medición de la rotación óptica que se produce sobre un haz de luz polarizada al pasar por una sustancia ópticamente activa. También se pueden utilizar hidrólisis ácidas para alimentos que sean muy refinados, por ejemplo, la glucosa se puede medir utilizando métodos colorimétricos. Adicionalmente existe el tratamiento de las muestras con dimetilsulfóxido antes y después de la medición para la determinación de almidón (Greenfield & Southgate, 2003).

Para la determinación de almidón resistente se utiliza el método enzimático en el cual se realiza una serie de reacciones con enzimas como la amiloglucosidasa y α -amilasa pancreática y al someterse a incubación el almidón resistente se solubiliza e hidroliza a D-glucosa por la acción de las enzimas. Esta reacción se termina mediante la adición de volúmenes de etanol para formar pequeños aglomerados de almidón, los cuales se colocan en un baño de hielo y se neutralizan con la adición de acetato de sodio y el almidón se hidroliza cuantitativamente a glucosa con amiloglucosidasa. La D-glucosa se mide utilizando un reactivo de color que contiene un reactivo de oxidasa-peroxidasa y esta es una medida del contenido de almidón resistente en la muestra (Megazyme, 2011).

3.9 GRANOS ANDINOS DEL ECUADOR

El chocho, la quinua, el amaranto y el sangorache son granos andinos que se siembran en la región Sierra del país y son la base de la alimentación principalmente de los pueblos andinos; de los granos andinos mencionados anteriormente el chocho y la quinua son los que se consumen en mayor cantidad en el país. Poseen un alto contenido de proteína, carbohidratos, grasa y fibra por lo que son de gran importancia para la alimentación y para la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y la obesidad. Si bien la importancia del amaranto y el sangorache ha tomado fuerza en los últimos años debido a que representan una nueva alternativa en la alimentación, su cultivo es tan antiguo como el del chocho y la quinua (Peralta, et al., 2012).

El presente trabajo se basa en la determinación del efecto del proceso de desamargado y fermentado en el contenido de almidón y fibra dietética en tres variedades de chocho; los resultados obtenidos fueron comparados con los granos andinos mencionados anteriormente ya que en la actualidad son los que tienen mayor importancia en la alimentación.

3.10 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del proceso de desamargado y de fermentado en el contenido de fibra dietética soluble e insoluble y de almidón total y resistente en tres variedades de chocho (andino INIAP 450, criollo, Guaranguito INIAP 451) mediante reacciones enzimáticas.

3.10.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.10.1.1 Identificar la variedad de chocho que posee alteración en el contenido de fibra soluble e insoluble por la aplicación de los tratamientos de desamargado y fermentado.

3.10.1.2 Establecer el porcentaje de variación en el contenido de almidón total y resistente en las tres variedades de chocho después del proceso de desamargado y fermentado.

3.10.1.3 Relacionar los valores obtenidos en el contenido de fibra y almidón en las tres variedades de chocho con el valor nutricional de la leguminosa.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIALES

El INIAP cuenta con un programa de mejoramiento de las variedades de chocho, el cual entregó 10 kilos de cada una de las muestras. Esta cantidad fue dividida en porciones de 2 kilos y de ahí se tomó una sub-muestra, mediante un proceso de cuarteo. Las muestras se sometieron a los procesos de desamargado y fermentación y luego fueron secadas y molidas antes de realizar los análisis respectivos.

Para el análisis de datos se utilizó un arreglo factorial 2x3, en el que se trabajó con 2 factores y 3 niveles en cada factor. Se realizaron 3 repeticiones de los análisis en cada variedad de chocho dando un total de 72 determinaciones.

4.2 MÉTODOS

Para los análisis de fibra dietética total, soluble e insoluble y para los ensayos de almidón resistente las muestras se desengrasaron, empleando 5 gramos de las muestras en una funda de papel filtro la cual se colocó en un vaso de precipitación y se llenó con hexano, se dejó reposar durante la noche y al siguiente día las muestras se secaron en la estufa a 105 °C durante una hora. Para los análisis de almidón total a las muestras no se les realizó ningún tratamiento previo.

4.2.1 DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN TOTAL MEDIANTE POLARIMETRÍA

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

Se pesó 2,5 gramos de la muestra, previamente secada y molida, en un balón aforado de 50 mL, se agregaron 25 mL de ácido clorhídrico 0.31 N (Anexo 1), y se agitó

por 15 minutos en una plancha con agitación magnética a 700 rpm (Cole-Parmer). Una vez transcurrido este tiempo se llevó a un baño de agua hirviente durante 15 minutos, ver Figura 9, con agitación continua y pasado este tiempo las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente (aprox. 16 °C) y se adicionaron 0.5 mL de solución I de Ferrocianuro de potasio trihidratado al 15 % y 0,5 mL de solución II de Sulfato de zinc heptahidratado al 30 % (Anexo 1).



Figura 9: Muestras de chocho en baño de agua hirviente

Después se aforó el balón con agua destilada y se procedió a centrifugar las muestras en el equipo correspondiente (International Equipment) por 10 minutos a 3000 rpm; una vez que se centrifugaron, se filtraron y se añadió 5 mL más de solución I y II, se agitó por 5 minutos a 700 rpm y se repitió la centrifugación y filtración; finalmente las soluciones obtenidas se almacenaron en refrigeración hasta su lectura en el polarímetro. Es importante mencionar que las muestras debían quedar transparentes y cristalinas para que se puedan leer en el polarímetro, si las muestras no están transparentes se debe añadir solución I y II cuantas veces sea necesario hasta que la muestra carezca de turbidez.

PREPARACIÓN DEL BLANCO:

Se pesó 5 gramos de la muestra, previamente secada y molida, en un balón aforado de 50 mL, se agregaron 40 mL de agua destilada y se agitó por 15 minutos en una plancha con agitación magnética a 700 rpm (Cole-Parmer). Transcurrido este tiempo se añadió 1 mL de la solución I y 1 mL de la solución II (Anexo 1) y se agitó por 5 minutos; luego se aforó el balón con agua destilada y se centrifugó las muestras en el equipo

(International Equipment) por 10 minutos a 3000 rpm y después se filtró. Se tomó 25 mL del filtrado en un balón aforado de 50 mL y se añadió 1 mL de ácido clorhídrico al 25 % (Anexo 1) y se llevó a un baño de agua hirviendo por 15 minutos con agitación continua, pasado este tiempo se dejó enfriar y se aforó con agua destilada. Al igual que las muestras, el blanco también debe carecer de turbidez para que se pueda leer en el equipo. Finalmente se llenó el tubo de 200 mm con las soluciones del blanco y las muestras y se leyó en el polarímetro (Atago Polax 2L), ver Figura 10.



Figura 10: Muestras en el polarímetro ATAGO POLAX 2L

Para calcular el porcentaje de almidón total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{Almidón total} = (a-b) \times f \quad (4.1.)$$

Donde:

a: ángulo de rotación de la muestra

b: ángulo de rotación del blanco

f: factor del almidón (5.662)

4.2.2 DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE ADAPTADO DEL MÉTODO AOAC 200.02 Y MÉTODO AACC 32-40.01

Se pesó 100 miligramos de la muestra en tubos de ensayo con tapa, se añadió 4 mL de α -amilasa pancreática (10mg/mL) conteniendo Amiloglucosidasa (3U/mL) (solución 2) (Anexo 1) en cada tubo de ensayo. Se tapó los tubos, se mezcló en un vórtex (Vórtex Mixer VM-300) y se colocó en un baño maría con agitación horizontal (Precision Scientific) a 37 °C durante 16 horas exactamente a 60 rpm. Pasado este tiempo se sacó los tubos del baño maría y se limpió la superficie del tubo con papel toalla, se retiró la tapa y se añadió 4 mL de etanol al 99 % v/v y se mezcló en un vórtex.

Se centrifugó los tubos a 3000 rpm por 10 minutos en una centrifuga (International Equipment) y cuidadosamente se decantó los sobrenadantes y en los pequeños aglomerados formados, ver Figura 11, se colocó 2 mL de etanol al 50 %, se mezcló en un vórtex; se añadió 6 mL más de etanol a 50% y se mezcló y centrifugó nuevamente a 3000 rpm por 10 minutos. Se decantó los sobrenadantes y se repitió la suspensión y centrifugación una vez más. Se decantó nuevamente los sobrenadantes y se invirtieron los tubos en papel toalla para drenar el exceso de líquido.



Figura 11: Aglomerados formados después de la suspensión con etanol

Después se agregó un agitador magnético y se añadió 2 mL de KOH 2 M (Anexo 1) a cada uno y se colocó en baño de agua con hielo por 20 minutos con agitación constante a 700 rpm para disolver el almidón resistente, ver Figura 12.

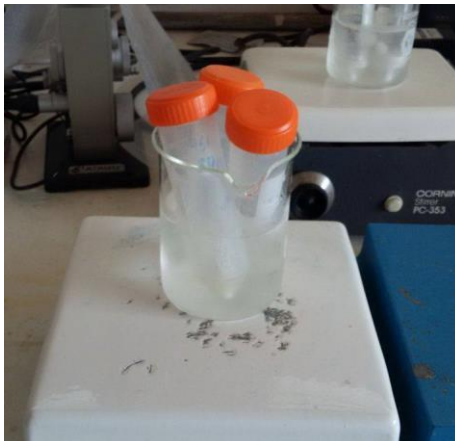


Figura 12: Muestras en baño de agua con hielo

Pasado este tiempo se añadió 8 mL de tampón acetato de sodio 1,2 M con pH 3,8 (Anexo 1) en cada tubo y se mezcló con el agitador magnético a 700 rpm por 2 minutos; inmediatamente se agregó 0.1 mL de Amiloglucosidasa (solución 1; 3300U/mL) (Anexo 1), se mezcló y se colocó en un baño maría (Sybron Thermolyne) a 50 °C por 30 minutos con agitación continua a 700 rpm, ver Figura 13.



Figura 13: Muestras en baño maría a 50 °C

Transcurrido este tiempo se sacó los tubos, se centrifugó directamente a 3000 rpm por 10 minutos (las muestras tienen menos de 10 % de AR). En el caso del estándar que tiene más de 10 % de almidón resistente se transfirió el contenido del tubo en un balón aforado de 100 mL y se ajustó el volumen con agua destilada, luego se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos.

Se tomó 0.1 mL por triplicado de las muestras y se agregó 3 mL del reactivo de color que contiene enzimas glucosa oxidasa /peroxidasa (Anexo 1). Para el blanco se colocó 0.1 mL de tampón acetato de sodio 100mM pH 4,5 (Anexo 1) y 3 mL del reactivo de color. Para el control de D-glucosa se colocó 0.1 mL del estándar de D-glucosa y 3 mL del reactivo de color, ver Figura 14. El control de glucosa se realiza debido a que el almidón resistente presente en las muestras se hidroliza a glucosa por la acción de la amiloglucosidasa, la D-glucosa se mide con el reactivo de color y el resultado es una medida del contenido de almidón resistente en las muestras.

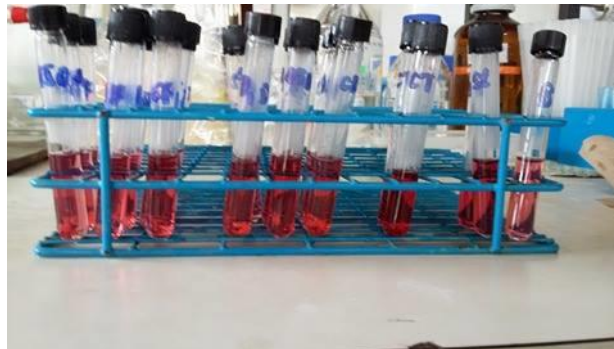


Figura 14: Muestras con reactivo de color GOPOD

Las muestras, el blanco y el estándar de glucosa se incubaron en un baño maría a 50 °C por 20 minutos y finalmente se midió la absorbancia de cada solución a 510 nm en un espectrofotómetro UV (Thermo Scientific), ver Figura 15.



Figura 15: Espectrofotómetro UV THERMO SCIENTIFIC

Para calcular el contenido de almidón resistente se utilizaron las siguientes fórmulas:

Para muestras que tienen más de 10 % de almidón resistente:

$$\% \text{Almidón resistente: } \text{Absorbancia} \times f \times \frac{100}{0.1} \times \frac{1}{100} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \quad (4.2)$$

$$\% \text{Almidón resistente: } \text{Absorbancia} \times \frac{F}{W} \times 90 \quad (4.3)$$

Para muestras que tienen menos de 10 % de almidón resistente:

$$\% \text{Almidón resistente: } \text{Absorbancia} \times F \times \frac{10.3}{0.1} \times \frac{1}{100} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \quad (4.4)$$

$$\% \text{Almidón resistente: } \text{Absorbancia} \times \frac{F}{W} \times 9.27 \quad (4.5)$$

Donde:

F: conversión de la absorbancia a microgramos (la absorbancia obtenida para 100 ug de D-glucosa en el reactivo de color y F=100 (ug de D-glucosa) dividida para la absorbancia del reactivo de color por los 100 ug de D-glucosa.

100/0.1: corrección de volumen (0.1 mL tomado de 100 mL)

1/1000: conversión de microgramos a miligramos

W: peso seco de la muestra analizada

100/W: factor para representar el almidón resistente como porcentaje del peso de la muestra.

162/180: factor para convertir desde D-glucosa libre según lo determinado a anhidro D-glucosa como ocurre en el almidón.

10.3/0.1: corrección de volumen (0,1 tomados de 10.3 mL) para muestras que contienen 0-10% almidón resistente donde la solución no es diluida y el volumen final es 10.3 mL.

4.2.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL ADAPTADO POR EL INIAP DEL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32-07 (APROBACIÓN FINAL 10-16-91)

Se pesó 1 gramo de muestra, previamente desengrasada, por duplicado en vasos de precipitación de 400 mL y se añadió 50 mL de tampón fosfato 0.08M pH 6 (Anexo 1) y se ajustó el pH a 6 utilizando un pHmetro (Inolab) posteriormente se añadió 50 μ L de α -amilasa y se cubrió los vasos con papel aluminio y se los llevó a un baño de agua hirviente por 15 minutos, con agitación suave cada 5 minutos, ver Figura 16.



Figura 16: Muestras en baño de agua hirviente

Después se enfrió las soluciones a temperatura ambiente (aprox.16 °C) y se ajustó el pH a 7.5 mediante la adición de 10 mL de hidróxido de sodio 0.275 N (Anexo 1) y se verificó el pH; una vez que el pH estaba ajustado se añadieron 100 µL de proteasa y se cubrió nuevamente los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría (Sybron Thermolyne) a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm, ver Figura 17.

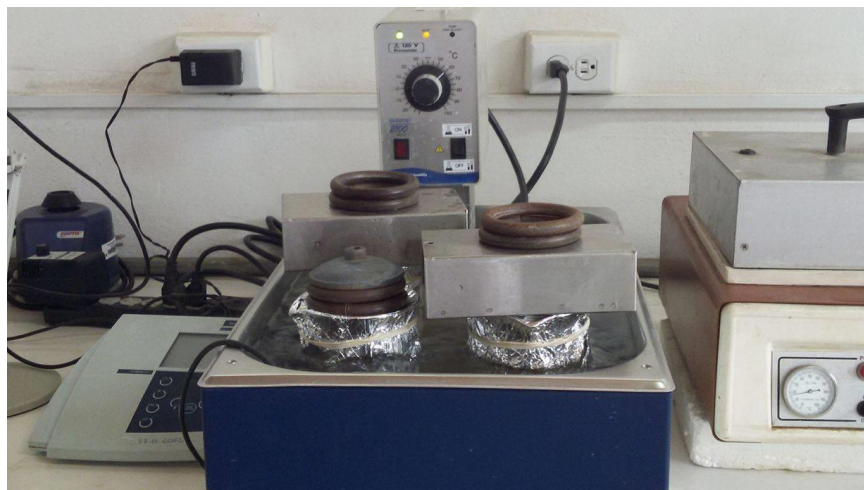


Figura 17: Muestras en baño maría con agitación continua

Pasado este tiempo se enfriaron las muestras a temperatura ambiente (aprox.16 °C) y se ajustó el pH a 4.5 mediante la adición de 10 mL ácido clorhídrico 0.325N (Anexo 1) y se verificó el pH. Una vez ajustado el pH, se añadieron 200 µL de amiloglucosidasa y se cubrieron los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm. Transcurrido este tiempo se añadieron 280 mL de etanol al 95 % v/v previamente calentado a 60 °C y se dejó formar el precipitado durante 60 minutos a temperatura ambiente. Después se filtraron las muestras utilizando crisoles Gooch con ayuda de una bomba al vacío (P-Selecta) y se lavó el residuo con 3 porciones de 20 mL de etanol a 78 % (Anexo 1), 2 porciones de 10 mL de etanol al 95 % y 2 porciones de 10 mL de acetona. El residuo que quedó en el crisol se secó en una estufa (Memert) a 105°C durante toda la noche, ver Figuras 18 y 19.



Figura 18: Crisoles en estufa MEMERT



Figura 19: Crisoles Gooch con residuo de FDT en la estufa

Los crisoles Gooch utilizados se tararon previamente. Se añadió una pequeña cantidad de lana de vidrio a cada crisol para tapar los orificios que tienen al fondo y nuevamente se pesó, finalmente se humedeció la lana de vidrio con unas gotas de etanol al 78 % y se dejó en el desecador hasta el momento de filtrar las muestras.

Una vez que se sacaron los crisoles con el residuo de la estufa se dejó enfriar en el desecador y se pesó. El residuo que quedó en los crisoles se incineró en una mufla (Thermolyne) a 525 °C durante 5 horas, se enfrió en un desecador y se pesó.

El contenido de fibra dietética total se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ FDT} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 \quad (4.6)$$

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso incinerado}}{\text{Peso de muestra} + \text{Peso del crisol+lana}} \times 100 \quad (4.7)$$

$$\% \text{ FDT corregida} = \% \text{ FDT} - \% \text{ CENIZA} \quad (4.8)$$

4.2.4 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE ADAPTADO POR EL INIAP DEL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32-07 (APROBACIÓN FINAL 10-16-91)

Se pesó 1 gramo de muestra, previamente desengrasada, por duplicado en vasos de precipitación de 400 mL y se añadió 50 mL de tampón fosfato 0.08M pH 6 (Anexo 1) y se ajustó el pH a 6 utilizando un pHmetro (Inolab) posteriormente se añadió 50 µL de α-amilasa y se cubrió los vasos con papel aluminio y se los llevó a un baño de agua hirviente por 15 minutos, con agitación suave cada 5 minutos. Después se enfrió las soluciones a temperatura ambiente (aprox. 16 °C) y se ajustó el pH a 7.5 mediante la adición de 10 mL de hidróxido de sodio 0.275 N (Anexo 1) y se verificó el pH; una vez que el pH estaba ajustado se añadió 100 µL de proteasa y se cubrió nuevamente los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría (Sybron Thermolyne) a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm.

Pasado este tiempo se enfrió las muestras a temperatura ambiente (aprox. 16 °C) y se ajustó el pH a 4.5 mediante la adición de 10 mL ácido clorhídrico 0.325N (Anexo 1)

y se verificó el pH. Una vez ajustado el pH, se añadió 200 µL de amiloglucosidasa y se cubrió los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm. Se sacó las muestras del baño maría y se filtró en crisoles Gooch con la ayuda de una bomba al vacío y se lavó el residuo con dos porciones de 10 mL de agua destilada previamente calentada a 70 °C, se pesó la solución del filtrado y se ajustó el peso a 80 gramos con agua destilada, luego se añadieron 320 mL de etanol al 95 % previamente calentado a 60°C y se dejó que se forme el precipitado durante 60 minutos a temperatura ambiente (aprox. 16 °C).

Después se filtraron las muestras con ayuda de una bomba al vacío (P-selecta) y se lavó el residuo con 2 porciones de 15 mL de etanol a 78 % (Anexo 1), 2 porciones de 15 mL de etanol al 95 % y 2 porciones de 15 mL de acetona. El residuo que quedó en el crisol se secó en una estufa (Memert) a 105 °C durante toda la noche. Los crisoles Gooch utilizados se tararon como se hizo en la determinación de fibra dietética total.

Una vez que se sacó los crisoles con el residuo de la estufa se dejó enfriar en el desecador y se pesó. El residuo que quedó en los crisoles se incineró en una mufla (Thermolyne) a 525 °C durante 5 horas, se enfrió en un desecador y se pesó.

El contenido de fibra dietética soluble se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ FDS} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 \quad (4.9)$$

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso incinerado}}{\text{Peso de muestra} + \text{Peso del crisol+lana}} \times 100 \quad (4.10)$$

$$\% \text{ FDS corregida} = \% \text{ FDS} - \% \text{ CENIZA} \quad (4.11)$$

4.2.5 DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA INSOLUBLE ADAPTADO POR EL INIAP DEL EL MÉTODO AOAC 991.43 (PRIMERA ACCIÓN 1991) Y EL MÉTODO AACC 32-07 (APROBACIÓN FINAL 10-16-91)

Se pesó 1 gramo de muestra, previamente desengrasada, por duplicado en vasos de precipitación de 400 mL y se añadió 50 mL de tampón fosfato 0.08M pH 6 (Anexo 1) y se ajustó el pH a 6 utilizando un pHmetro (Inolab) posteriormente se añadió 50 μ L de α -amilasa y se cubrió los vasos con papel aluminio y se los llevó a un baño de agua hirviendo por 15 minutos, con agitación suave cada 5 minutos. Después se enfrió las soluciones a temperatura ambiente (aprox. 16 °C) y se ajustó el pH a 7.5 mediante la adición de 10 mL de hidróxido de sodio 0.275 N (Anexo 1) y se verificó el pH; una vez que el pH estaba ajustado se añadió 100 μ L de proteasa y se cubrió nuevamente los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría (Sybron Thermolyne) a 60°C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm.

Pasado este tiempo se enfrió las muestras a temperatura ambiente (aprox. 16 °C) y se ajustó el pH a 4.5 mediante la adición de 10 mL ácido clorhídrico 0.325N (Anexo 1) y se verificó el pH. Una vez ajustado el pH, se añadió 200 μ L de amilogucosidasa y se cubrió los vasos con papel aluminio y se llevó a un baño maría a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua a 700 rpm.

Con la ayuda de una bomba al vacío se filtró las muestras en crisoles Gooch y se lavó el residuo con dos porciones de agua destilada previamente calentada a 70 °C, del residuo que quedó se filtró y se lavó con dos porciones de 10 mL de etanol 95 % y dos porciones de 10 mL de acetona.

El residuo que quedó en el crisol se secó en una estufa (Memert) a 105 °C durante toda la noche, ver Figura 20.

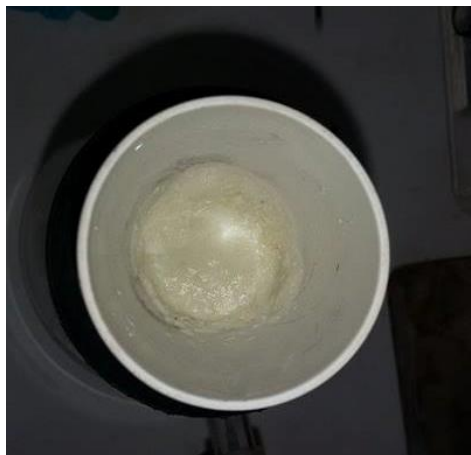


Figura 20: Crisol Gooch con residuo de FDI

Los crisoles Gooch utilizados se tararon como se hizo en la determinación de fibra dietética total. Una vez que se sacaron los crisoles con el residuo de la estufa se dejó enfriar en el desecador y se pesó. El residuo que quedó en los crisoles se incineró en una mufla (Thermolyne) a 525 °C durante 5 horas, se enfrió en un desecador y se pesó.

El contenido de fibra dietética insoluble se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$\%FDI = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 \quad (4.12)$$

$$\%CENIZA = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso incinerado}}{\text{Peso de muestra} + \text{Peso del crisol+lana}} \times 100 \quad (4.13)$$

$$\%FDI_{\text{corregida}} = \%FDI - \%CENIZA \quad (4.14)$$

4.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los resultados obtenidos para los porcentajes de almidón total y resistente y fibra dietética total, soluble e insoluble se realizó la prueba de Tukey con arreglo factorial $a \times b$ con el software estadístico *Infostat*, donde se tomó como factor A la variedad de chocho y como factor B se tomó el tipo de proceso: amargo, desamargado o fermentado.

La prueba de Tukey se utiliza para evaluar si existen diferencias significativas entre las medias de tratamientos de un grupo de datos, siempre y cuando el número de repeticiones sea igual en todos los casos. Se formula una hipótesis nula en la que no existe diferencia en los tratamientos contra una hipótesis alternativa en la que al menos uno de los tratamientos es diferente. Se calcula el valor w que es la diferencia mínima significativa a un cierto nivel de significancia, mediante la siguiente fórmula:

$$w = q \times \sqrt{CME/r} \quad (4.15)$$

Donde:

q = Valor obtenido en la Tabla Tukey, en función del nivel de significancia.

CME= cuadrado medio del error experimental

r = número de repeticiones

Si la diferencia entre dos promedios es mayor que el valor w se concluye que los dos promedios no son iguales y viceversa (Reyes, 2014).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ALMIDÓN TOTAL Y RESISTENTE

En la Tabla 3 se puede observar que los granos amargos tuvieron mayor cantidad de AT comparado con los granos desamargados y fermentados. La disminución del contenido de AT en los granos desamargados se debe a que durante la cocción se modifica la estructura del almidón; al hidratarse los gránulos de almidón se hinchan y una fracción de amilopectina se pierde en el agua y si el calentamiento continúa también se empiezan a perder fracciones de amilosa en el agua de cocinado provocando que el contenido de almidón total se reduzca (Montignac, 2004).

Tabla 3: Porcentaje de almidón total obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados

MUESTRA	MEDIA DE LECTURA EN POLARÍMETRO	MEDIA DE LECTURA DEL BLANCO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
GRANO AMARGO					
450	1,100	0,700	2,265 ^c	0,000	0,000
451	1,250	0,700	2,925 ^a	0,163	0,056
criollo	1,200	0,700	2,642 ^b	0,163	0,062
GRANO DESAMARGADO					
450	0,650	0,450	1,132 ^f	0,000	0,000
451	0,850	0,500	1,793 ^d	0,163	0,091
criollo	0,700	0,500	1,132 ^f	0,000	0,000
GRANO FERMENTADO					
450	0,600	0,350	1,416 ^e	0,000	0,000
451	0,800	0,350	2,548 ^b	0,000	0,000
criollo	0,600	0,350	1,416 ^e	0,000	0,000
Los resultados que poseen letras iguales no son significativamente diferentes Las muestras que se encuentran en el rango a tienen mayor contenido de almidón total y va bajando en los siguientes rangos estadísticos Valores promedios de tres repeticiones –Prueba de Tukey al 5%					

En los granos fermentados el contenido de AT aumentó ligeramente en comparación con los granos desamargados. La fermentación es un proceso que degrada moléculas grandes como el almidón en moléculas más simples como la glucosa y sacarosa los cuales sirven de alimento para el hongo, y se esperaría que el contenido de AT disminuya en los granos fermentados, sin embargo se observa un aumento (Villén, 2012). No hay estudios realizados con anterioridad en los granos fermentados con los que se puedan comparar los resultados obtenidos en este trabajo, pero el aumento que se observa puede deberse a que durante la fermentación en estado sólido se forman nuevos compuestos y algunos de estos no son digeribles (Botella, de Ory, Webb, Cantero, & Blandino, 2002).

En base a los resultados obtenidos se puede decir que el chocho no es una fuente significativa de almidón ya que existen otras leguminosas que tienen mayor contenido del mismo como el fréjol con 9.4 % de almidón; las lentejas que tienen 44,9 % y los garbanzos que tienen 43 % de almidón (Araneda, 2016). Se recomienda que el consumo de almidón al día sea el 40-65 % del total de las calorías que se ingieren al día para otorgar saciedad y evitar que se consuman grandes cantidades de comida, además de ser una fuente de energía para el cuerpo (American Diabetes Association, 2014). Si bien el chocho desamargado no es una fuente importante de almidón comparada con otras leguminosas si se lo puede incluir en la dieta para aportar algunos de sus beneficios. En el caso de los granos fermentados también se recomienda ingerirlos ya que aparte del almidón, los alimentos fermentados son una fuente importante de probióticos y vitaminas, ya que ayudan a mejorar el equilibrio de las bacterias del sistema digestivo (Ecoosfera, 2016).

Al comparar el porcentaje de almidón en los granos de chocho fermentados con la soya fermentada o tempeh como se la conoce comúnmente se observa que este no contiene almidón (Calvo, 2003) mientras que las diferentes variedades de chocho tienen alrededor del 2,5 %.

Es importante también mencionar que de las tres variedades de chocho que fueron analizadas, la variedad *Guaranguito INIAP 451* fue la que presentó mayor contenido de almidón total en los granos amargos, desamargados y fermentados. Esto se debe a que cada variedad posee una composición química diferente.

En la tabla 3 también se observa que el % CV en todo el grupo de datos es menor al 10 % lo que indica que existe una buena dispersión de los datos cercanos a la media y por lo tanto el método utilizado para la determinación de almidón total fue preciso.

En la Tabla 4 se puede observar que los granos amargos tuvieron la mayor cantidad de AR en comparación con los granos desamargados y fermentados. Esta disminución del contenido de almidón resistente en los granos desamargados se debe a que el tratamiento térmico que se aplica durante la cocción se aumenta la digestibilidad del almidón. Los gránulos de almidón nativo son una mezcla de amilopectina y amilosa y una matriz de proteína que los rodea, su estructura determina el carácter harinoso según sus propiedades de solubilidad. Es así que estos gránulos de almidón pueden resistir de diferente forma la hidrólisis de las amilasas, pero cuando a los gránulos se les aplica calor se produce una ruptura de esta estructura aumentando la solubilidad del almidón y su hidrólisis a moléculas más sencillas como dextrinas y azúcares, en el proceso conocido como gelatinización y que facilita el ataque de las enzimas digestivas (Gorrachategui, 2010).

Tabla 4: Porcentaje de almidón resistente obtenido en las diferentes variedades de chocho en los estudiados.

MUESTRA	ABSORBANCIA	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
GRANO AMARGO				
450	0,037	0,327 ^c	0,000	0,000
451	0,033	0,291 ^d	0,000	0,000
criollo	0,065	0,574 ^a	0,015	0,027
GRANO DESAMARGADO				
450	0,025	0,224 ^e	0,005	0,023
451	0,027	0,238 ^e	0,000	0,000
criollo	0,043	0,380 ^b	0,000	0,000
GRANO FERMENTADO				
450	0,018	0,159 ^f	0,015	0,096
451	0,016	0,144 ^f	0,010	0,071
criollo	0,042	0,374 ^b	0,005	0,014
Los resultados que poseen letras iguales no son significativamente diferentes Las muestras que se encuentran en el rango a tienen mayor contenido de almidón total y va bajando en los siguientes rangos estadísticos Valores promedios de tres repeticiones –Prueba de Tukey al 5%				

En la Tabla 5 se pueden observar el peso utilizado de las muestras y el estándar para la determinación de AR, así como la absorbancia que se obtuvo para el mismo y para el control de glucosa. También se observa el valor del factor F; todos estos valores fueron utilizados para hacer los respectivos cálculos del contenido de AR en las muestras de chocho analizadas.

Tabla 5: Datos utilizados para el cálculo del porcentaje de almidón resistente en las tres variedades de chocho.

MUESTRA	ABSORBANCIA	PESO DE MUESTRAS Y ESTÁNDAR	FACTOR F
ESTÁNDAR	0,501	100 mg	(100/ absorbancia de control de glucosa) F =95,23
ESTÁNDAR	0,530		
CONTROL DE GLUCOSA	1,050		

En los granos fermentados se observó que el contenido de AR disminuyó en comparación con los granos desamargados. Durante el proceso de fermentación los nutrientes se transforman en sustancias más digeribles, en el caso del almidón resistente una fracción de este pasaría a ser parte del almidón digerible por el organismo lo que causaría la disminución del contenido de este tipo de almidón. Por otra parte, durante el proceso de fermentación una parte del almidón se transforma en glucosa mediante la acción de enzimas como la amilasa, glucosidasas y amiloglucosidasa; estos azúcares son utilizados como fuente de energía del hongo para vivir y como consecuencia se reduce el porcentaje de almidón resistente (Munguia, Reyes, Espinosa, Navarro, & Melgoza).

Al comparar el contenido de AR obtenido en los granos de chocho desamargados, que es la forma más común de consumir el chocho, con otros alimentos se observa que el chocho no tiene cantidades significativas de almidón resistente, existen otros alimentos con mayor contenido como la avena que por cada 100 g tiene 3,5 g de almidón resistente y el plátano verde tiene entre 1 y 4 g de almidón resistente por cada 100 g (Vera A. , 2016).

De las tres variedades de chocho la que presentó mayor contenido de almidón resistente fue la variedad *Criollo*, como se mencionó anteriormente esto depende de la composición química de cada variedad. De igual manera que en la determinación de almidón total el % CV es menor al 10 % indicando que existe una buena dispersión de

los datos cercanos a la media y por lo tanto el método utilizado para la determinación de almidón resistente fue preciso.

5.2 FIBRA DIETÉTICA TOTAL, SOLUBLE E INSOLUBLE

En la Tabla 6 se puede observar que los granos amargos tuvieron menor contenido de FDT en comparación con los granos desamargados y fermentados. También se observa que luego someter a los granos al proceso de fermentación el contenido de FDT disminuye en comparación con los granos desamargados.

Tabla 6: Porcentaje de fibra dietética total en las tres variedades de chocho en los granos analizados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.

MUESTRA	MEDIA % FDC	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
GRANO AMARGO			
450	32,936 ^d	1,606	0,049
451	47,945 ^{abc}	0,131	0,003
Criollo	32,335 ^d	2,034	0,063
GRANO DESAMARGADO			
450	48,892 ^{ab}	0,704	0,014
451	52,301 ^a	0,260	0,005
Criollo	52,054 ^a	:0,102	0,002
GRANO FERMENTADO			
450	42,822 ^c	0,073	0,002
451	43,230 ^{bc}	0,316	0,007
Criollo	45,583 ^{bc}	3,445	0,076
Los resultados que poseen letras iguales no son significativamente diferentes Las muestras que se encuentran en el rango a tienen mayor contenido de FDT y va bajando en los siguientes rangos estadísticos Valores promedios de tres repeticiones –Prueba de Tukey al 5%			

El aumento del contenido de FDT en los granos desamargados se debe a que se forman complejos que no son digeribles como el complejo almidón-tanino y los productos que se forman por la reacción de Maillard, también se promueven interacciones de aumento de los polisacáridos no almidones y almidones modificados, todos estos complejos son resistentes a las reacciones enzimáticas y pasan a formar parte de la fibra dietética insoluble, que es la mayor fracción de la fibra dietética total, aproximadamente el 80 % de esta (Alfonso,2000; Villacres 2013). Ya que la mayor parte de la fibra dietética total está formada por la fracción insoluble, se tienen altos valores de celulosa, hemicelulosa, pentosanos, galactanas, almidón resistente y sustancias pectinas, los cuales no son afectados por el tratamiento térmico que se aplica en los granos durante el proceso de desamargado y contrario de lo que se esperaría la ebullición incrementa los niveles de hemicelulosa y celulosa (Reistad & Frolich).

La disminución del contenido de FDT en los granos fermentados se debe a que la fibra dietética está compuesta de polisacáridos, almidón resistente, inulina y otros carbohidratos, estos son transformados por el hongo en compuestos más simples que utiliza como fuente de energía, lo que causa que se disminuya el contenido de FDT en los granos después del proceso de fermentación (Munguía, Reyes, Espinosa, Navarro, & Melgoza).

Al comparar los resultados obtenidos en el contenido de FDT en granos amargos de chocho con otros alimentos crudos se observó que este es una fuente importante de fibra; la quinua tiene entre 7-14 % de fibra, el amaranto tiene 7 % y el sangorache tiene aproximadamente 20 %; mientras que el chocho amargo tiene 32 -47 % casi el doble de los otros alimentos mencionados; sin embargo esta no es la forma habitual de consumir estos alimentos (Villacres, 2013).

En los granos desamargados se obtuvo un porcentaje de FDT 48-52 %, comparado con otros alimentos cocinados la quinua tiene entre 9-18 %, el amaranto tiene 11 % y el sangorache tiene 22 %. De igual manera que ocurre en los granos amargos, la cantidad de FDT en el chocho es el doble de los demás alimentos, por lo que se recomienda incluir el chocho en la dieta diaria. La FAO recomienda consumir 25-35 gramos de fibra dietética al día para adquirir sus beneficios en la salud ya que ayuda al mantenimiento normal del tránsito intestinal, evita los problemas de estreñimiento y además produce una sensación de saciedad evitando que se consuma una cantidad de comida en exceso (Cordero, 2013).

Por otro lado en los granos fermentados se tuvo entre 42-45 % y al compararlo con el tempeh se observa que este no tiene FDT, por lo que también sería una buena opción consumir los granos de chocho fermentados para obtener los beneficios de la fibra (Calvo, 2003)

En este caso las variedades de chocho Criollo y Guaranguito INIAP 451 tuvieron un contenido de FDT similar y mayor al de la variedad Andino INIAP 450. De igual manera que en los casos anteriores el % CV es menor al 10 % indicando que existe una buena dispersión de los datos cercanos a la media y por lo tanto el método utilizado para la determinación de FDT fue preciso. En el Anexo 2 se pueden observar las tablas con todos los resultados obtenidos en los ensayos para la determinación de FDT.

En la Tabla 7 se puede observar que los granos amargos tuvieron mayor porcentaje de FDS comparado con los granos desamargados y fermentados. Se observa que con el contenido de FDS disminuye con el proceso de desamargado y continúa disminuyendo al someter a los granos al proceso de fermentación.

Tabla 7: Porcentaje de fibra dietética soluble en las tres variedades de chocho en los granos estudiados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.

Muestra	MEDIA %FDS	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
GRANO AMARGO			
450	1,345 ^c	0,020	0,015
451	1,903 ^a	0,043	0,037
Criollo	1,850 ^a	0,009	0,005
GRANO DESAMARGADO			
450	0,501 ^f	0,069	0,137
451	1,613 ^b	0,022	0,013
Criollo	1,527 ^b	0,019	0,012
GRANO FERMENTADO			
450	0,233 ^g	0,013	0,057
451	1,032 ^d	0,013	0,013
Criollo	0,712 ^e	0,005	0,008
Los resultados que poseen letras iguales no son significativamente diferentes Las muestras que se encuentran en el rango a tienen mayor contenido de FDS y va bajando en los siguientes rangos estadísticos Valores promedios de tres repeticiones –Prueba de Tukey al 5%			

La disminución de la FDS en los granos desamargados se debe a que al cocinar los granos se pierde una fracción de este tipo de fibra en el agua de cocinado, por lo cual sería recomendable analizar el agua resultante para determinar el porcentaje de FDS que se ha perdido (Alfonso, 2000). El tratamiento térmico que se les aplica a los granos durante el proceso de desamargado modifica la estructura de la pared celular y de los polisacáridos almacenadores de las leguminosas lo que afecta la histología del tejido y la

integración proteína- carbohidrato, lo que produce que se pierda una cantidad de este tipo de fibra (Veena, Asna, & Shashikala).

Por otro lado, la disminución del porcentaje de FDS en los granos fermentados se debe a que la fibra soluble está formada por mucílagos, gomas y pectinas que como se ha explicado anteriormente son degradados a compuestos más simples que son utilizados para la supervivencia del hongo durante el proceso de fermentación lo que disminuye el contenido de FDS.

Al comparar los resultados obtenidos en el contenido de FDS en los granos de chocho amargos con otros granos crudos se observa que el chocho es la leguminosa que tiene mayor porcentaje de FDS (1,3-1,9 %), mientras que la quinua cruda tiene entre 0.20-0.60 % de FDS, el amaranto crudo tiene 0.49 % y el sangorache crudo tiene 1,20 % que es el que es más similar al chocho. En el caso de los granos desamargados el chocho continúa teniendo el mayor porcentaje de FDS (1,613 %-0,501%) mientras que la quinua cocinada tiene 0,20-0.60 %, valores que son muy similares a los que tiene la quinua cruda; el amaranto cocinado tiene 0.85 % y el sangorache tiene 1,38% de igual manera que en los granos crudos el sangorache cocinado tiene valores muy similares a los del chocho en el contenido de FDS (Villacres, 2013).

Si se compara el contenido de FDS en los granos fermentados con la soya fermentada (tempeh) se observa que el chocho tiene más fibra soluble ya que como se mencionó anteriormente el tempeh no tiene fibra. Debido a esto es recomendable consumir chocho, sobre todo desamargados, para obtener los beneficios de la FDS entre los cuales se encuentran: la reducción del el nivel de colesterol, estimulación los movimientos del intestino, mejora la fibra intestinal, además de causar sensación de saciedad (Watson & Smith, 2007).

En este caso la variedad *Guaranguito INIAP 451* fue la que tuvo mayor contenido de FDS en los granos amargos, desamargados y fermentados. Igualmente el % CV es menor al 10 % indicando que existe una buena dispersión de los datos cercanos a la media y por lo tanto el método utilizado para la determinación de FDS fue preciso.

Tabla 8: Porcentaje de fibra dietética insoluble en las tres variedades de chocho en los granos estudiados con el valor de la media, desviación estándar y coeficiente de variación.

MUESTRA	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
GRANO AMARGO			
450	28,869 ^c	2,604	0,090
451	43,902 ^{ab}	0,291	0,007
Criollo	30,688 ^c	1,036	0,034
GRANO DESAMARGADO			
450	46,252 ^{ab}	0,425	0,009
451	48,328 ^a	0,077	0,002
Criollo	48,801 ^a	0,286	0,006
GRANO FERMENTADO			
450	41,620 ^b	0,049	0,001
451	42,187 ^b	0,310	0,007
Criollo	43,575 ^{ab}	2,741	0,063
Los resultados que poseen letras iguales no son significativamente diferentes. Las muestras que se encuentran en el rango a tienen mayor contenido de FDI y va bajando en los siguientes rangos estadísticos. Valores promedios de tres repeticiones –Prueba de Tukey al 5%			

En la Tabla 8 se puede observar que los granos amargos tuvieron menor contenido de FDI comparado con los granos desamargados y fermentados. En los granos desamargados se observa que después de someter a los granos al proceso de fermentación el contenido de FDI disminuye en comparación con los granos desamargados.

Como se mencionó anteriormente la mayor fracción de la fibra dietética total es insoluble, por lo cual el incremento de esta en los granos desamargados se debe al aumento del contenido de hemicelulosa y celulosa durante la cocción, que se da por el hinchamiento que se produce durante el tratamiento térmico (Villacres, 2013).

En los granos fermentados se observó una ligera disminución del porcentaje de FDI. Debido a que la FDI es la mayor fracción de la FDT ocurre el mismo fenómeno que se ha explicado anteriormente, en el cual el contenido de fibra disminuye debido a la degradación de compuestos por acción del hongo.

Al comparar los valores obtenidos para el contenido de FDI en los granos amargos de chocho con los mismos granos que se ha comparado anteriormente la FDT y la FDS se observa que la quinua cruda tiene un contenido de FDI entre 7-14 %, el amaranto crudo tiene 6 % y el sangorache crudo tiene 18 %, mientras que el chocho tiene más del doble de la cantidad de FDI (28-43 %) que estos granos. En los granos desamargados se observa el mismo efecto, el chocho tiene alrededor del 48 %, por otro lado, la quinua cocinada tiene entre 9-18 %, el amaranto cocinado tiene 10 % y el sangorache cocinado tiene 22 % (Villacres, 2013). Debido a todo lo mencionado es importante incluir el chocho en la dieta para mejorar la salud ya que la FDI ayuda a prevenir el estreñimiento y las hemorroides, promueve la pérdida de peso, es beneficiosa para las personas con diabetes y previene la formación de cálculos biliares (Watson & Smith, 2007).

Las variedades *Guaranguito INIAP 451* y *Criollo* tuvieron contenido de FDI bastante similar y mayor que la variedad *Andino INIAP 450*. De igual manera el % CV es menor al 10 % indicando que existe una buena dispersión de los datos cercanos a la media y por lo tanto el método utilizado para la determinación de FDI fue preciso. En el Anexo 2 se pueden observar las tablas con todos los resultados obtenidos en los ensayos para la determinación de FDI.

6. CONCLUSIONES

1. Se observó que después del proceso de desamargado el contenido de almidón total disminuyó debido a la pérdida de fracciones de amilopectina y amilosa en el agua de cocinado. También se observó que en los granos fermentados el porcentaje de almidón total aumentó, lo que es contrario a lo que se esperaba ya que el hongo utilizado para la fermentación emplea el almidón como fuente de energía.
2. En los granos desamargados el contenido de almidón resistente disminuyó debido a un aumento de la digestibilidad del mismo facilitando el ataque de enzimas digestivas. En los granos fermentados también se observó una disminución en el porcentaje de almidón resistente, debido a que el hongo utilizado durante este tratamiento toma parte del almidón como fuente de energía.
3. Por los datos obtenidos se puede decir que el chocho no es una fuente significativa de almidón. En el caso del almidón resistente, el chocho tampoco es una fuente importante ya que su contenido es menor al 1% en las tres variedades y estos valores se observaron tanto en los granos amargos como en los desamargados y fermentados.
4. Se observó que luego del proceso de desamargado el contenido de FDT aumentó debido a la formación de complejos no digeribles que pasan a formar parte de la FDI que forma la mayor fracción de FDT.
5. La disminución de FDS en los granos desamargados se debe a que al ser soluble en agua una fracción de la fibra se pierde en el agua de cocinado.

6. El aumento de FDI luego del proceso de desamargado se debe al aumento de hemicelulosa y celulosa luego de aplicar un tratamiento térmico a los granos durante la cocción.

7. En los granos fermentados el contenido de FDT, FDS y FDI disminuyó debido a que el hongo transforma parte de esta fibra a sustancias más simples para utilizarlas como fuente de energía.

7. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda incluir el chocho en la dieta ya que al ser una fuente importante de fibra aporta muchos beneficios a la salud ya que reduce los niveles de colesterol, mejora el tránsito intestinal y produce una sensación de saciedad que evita el consumo excesivo de comida.
2. Según la FAO se recomienda ingerir entre 25-35g de fibra al día para conseguir todos los beneficios que esta aporta a la salud. También se recomienda incluir los chochos fermentados en la dieta ya que este tipo de alimentos son ricos en vitaminas y bacterias benéficas para el estómago.
3. Según los valores de ingesta diaria recomendada, se recomienda que el consumo de almidón sea del 40-65 % del total de calorías que se consume en el día.
4. Es recomendable incluir el chocho dentro de la dieta debido a las propiedades nutritivas que tiene y los grandes beneficios que aporta a la salud, en base a los resultados obtenidos se recomienda consumir alrededor de 50 gramos al día de chocho.
5. El consumo de chochos fermentados no es habitual en el país, pero debería ser incluido en la dieta ya que el proceso de fermentación mejora la calidad nutritiva de los alimentos; los chochos fermentados se pueden consumir fritos o se puede elaborar carne en base a los mismos.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso, G. (2000). Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. *SciELO*, 50(3), 281-285.
- Alternativa ecológica. (30 de diciembre de 2012). *Preparado casero a base de tarwi (Lupinus mutabilis Sweet)*. Recuperado el 2 de octubre de 2017, de Alternativa ecológica: <http://ecosiembra.blogspot.com/2012/12/preparado-casero-base-de-tarwi-lupinus.html>
- Alva, D. (16 de abril de 2013). *¿ Qué es la fibra ?* Recuperado el 1 de abril de 2017, de Diana Alva Health Coach : <http://www.vivesanamente.com/que-es-la-fibra/>
- American Diabetes Association. (abril de 2014). *Granos y vegetales con almidón*. Recuperado el 30 de agosto de 2017, de American Diabetes Association: <http://www.diabetes.org/es/alimentos-y-actividad-fisica/alimentos/que-voy-a-comer/la-eleccion-de-alimentos-saludables/granos-y-vegetales-con-almidon.html>
- Araneda, M. (15 de enero de 2016). *Legumbres: composición y propiedades*. Recuperado el 26 de agosto de 2017, de Edualimentaria: <http://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (4 ed.). México: Pearson.81-92, 107-109
- Botella, C., de Ory, I., Webb, C., Cantero, D., & Blandino, A. (2002). *Producción de enzimas hidrolíticas sobre orujo de uva*. Recuperado el 27 de octubre de 2017, de Universidad de Cádiz: <https://www.unioviado.es/BIOTEC04/documents/Area6/6O1.pdf>
- Caicedo, C., Murillo, A., Pinzón, J., Peralta, E., & Rivera, M. (2010). INIAP-450 Andino: Variedad de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*). Boletín Divulgatorio N°169. Quito, Ecuador.
- Caicedo, C., Peralta, E., Elena, V., & Rivera, M. (Marzo de 2001). Poscosecha y mercado del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*) en Ecuador. 4-5. Publicación Miscelánea N°105. Quito, Ecuador.
- Calvo, D. (mayo de 2003). *La soja: valor dietético y nutricional*. Recuperado el 30 de agosto de 2017, de Equilibrio alimentario en los escolares: http://www.diodora.com/documentos/nutricion_soja.htm
- Calvo, M. (s.f.). *El almidón*. Recuperado el 20 de septiembre de 2017, de Bioquímica de los alimentos: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucres/almidon.html>
- Castaño, L. (10 de agosto de 2013). *Frijol chocho supera en proteína a la soja*. Recuperado el 2 de octubre de 2017, de Un periódico-Universidad Nacional de

- Colombia: <http://www.unperiodico.unal.edu.co/dper/article/frijol-chocho-supera-en-proteina-a-la-soya.html>
- Chavarrías, M. (5 de diciembre de 2013). *Niveles de acrilamida en alimentos*. Recuperado el 26 de agosto de 2017, de Fundación Erosky: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2013/12/05/218795.php>
- Chirinos-Arias, M. (2015). Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) una planta con potencial nutritivo y medicinal. *Biociencias*, 3(3), 163-172.
- Cordero, D. (19 de abril de 2013). *GeoSalud*. Recuperado el 21 de junio de 2017, de Fibra dietética: <http://www.geosalud.com/nutricion/fibra-dietetica.html>
- Ecoosfera. (03 de junio de 2016). *Increíbles beneficios de los alimentos fermentados*. Recuperado el 30 de agosto de 2017, de Ecoosfera: <http://ecoosfera.com/2016/06/increibles-beneficios-de-los-alimentos-fermentados/>
- Genes, A. H. (2013). Importancia de la fibra en la alimentación y recomendaciones nutricionales del consumo. *Gastrohnut*, 15(2), 19-25.
- Gorrachategui, M. (2010). Efecto del tratamiento térmico de las materias primas sobre su valor nutricional. *FEDNA*, 57-58.
- Greenfield, H., & Southgate, D. (2003). *Datos de composición de alimentos* (2 ed.). Roma: FAO.
- Información. (16 de septiembre de 2015). *Información de los 4 tipos de almidón resistente*. Recuperado el 22 de septiembre de 2017, de Información: <http://informacionde.info/informacion-sobre-los-4-tipos-de-almidon-resistente/>
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (Julio de 2010). INIAP 451 Guranguito, nueva variedad de chocho para la provincia de Bolívar. Boletín Divulgatorio N°382. Quito, Ecuador.
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (junio de 2006). Usos alternativos del chocho. *Chocho (Lupinus mutabilis Sweet) Alimento andino Redescubierto*. Quito, Ecuador: INIAP. Boletín Divulgatorio N°333. Quito, Ecuador.
- Jacobsen, S., & Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. *Botánica económica de los Andes centrales*, 458-463.
- Jacobsen, S., & Sherwood, S. (2002). *Cultivo de granos andinos en el Ecuador*. Lima: Abaya-Yala.
- Jiménez, R., González, N., Magaña, A., & Corona, A. (2011). Contenido de Almidón resistente en Alimentos consumidos en el sureste de México. *UNACAR Tecnociencia*, 27-34.
- Leonel, J. (19 de junio de 2012). *Propiedades de los chochos*. Obtenido de Los chochos: <http://josleonel.blogspot.com/2012/06/los-chochos-los-chochos.html>
- Megazyme. (2011). Resistant starch assay procedure. *Megazyme*, 2.

- Megazyme. (2011). Total dietary fibre assay procedure. *Megazyme*, 1.
- Ministerio coordinador de conocimiento y talento humano. (22 de 2 de 2017). *El chocho es una alternativa para una mejor alimentación de los ecuatorianos*. Obtenido de Ministerio coordinador de conocimiento y talento humano: <http://www.conocimiento.gob.ec/el-chocho-es-una-alternativa-para-una-mejor-alimentacion-de-los-ecuatorianos/>
- Montignac, M. (2004). *Factores que modifican el IG*. Recuperado el 26 de agosto de 2017, de Methode Montignac: <http://www.montignac.com/es/factores-que-modifican-el-ig/>
- Munguia, R., Reyes, M., Espinosa, A., Navarro, A., & Melgoza, N. (s.f.). Estudio sobre la fermentación de Soya (*Glycine max*) con *Rhizopus oryzae*.
- Pelayo, M. (8 de septiembre de 2011). *Usos de los microorganismos en la elaboración de alimentos*. Recuperado el 25 de junio de 2017, de Eroski consumer : <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2011/09/08/202967.php>
- Peralta, E., Mazón, N., Murillo, A., Rivera, M., Rodríguez, D., Lomas, L., & Monar, C. (2012). Chocho, quinua, amaranto y ataco. *Manual agrícola de granos andinos*, 4-5. ublicación Miscelánea N°69. 3ra Ed., Quito, Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP.
- Pérez, C. (s.f.). *Funciones de la fibra insoluble y alimentos ricos en esta*. Recuperado el 21 de septiembre de 2017, de Natursan: <https://www.natursan.net/funciones-de-la-fibra-insoluble-y-alimentos-ricos/>
- Pérez del Pozo, P. (30 de septiembre de 2013). *Alimenta tu bienestar*. Obtenido de La importancia de las proteínas en la alimentación: <http://www.alimentatubienestar.es/importancia-de-las-proteinas-en-la-alimentacion/>
- Quiroga, C. (2008). Los almidones resistentes y la salud. *Investigación y Desarrollo*(8), 131-142.
- Ramírez, J., & Ayala, M. (1 de diciembre de 2014). Enzimas ¿ qué son y como funcionan? *Revista Digital Universitaria UNAM*, 15(12). Obtenido de Revista digital universitaria UNAM.
- Reistad, R., & Frolich, E. (s.f.). Content and composition of dietary fibre in some fresh and cooked Norwegian vegetables. *Food Chemistry*, 13, 215.
- Reyes, L. (7 de mayo de 2014). *Prueba de Tukey para experimentos desbalanceados*. Recuperado el 22 de agosto de 2017, de Estadística, Matemática y Computación: <http://reyesestadistica.blogspot.com/2014/05/prueba-de-tukey-para-experimentos.html>
- Roxby, P. (20 de marzo de 2016). *¿ Es cierto que la comida fermentada es buena para tu intestino?* Recuperado el 1 de septiembre de 2017, de BBC MUNDO:

http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/03/160317_comida_fermentada_intestinos_finde_dv

- Segura, F., Echeverri, R., Patiño, A., & Mejía, A. (2007). Descripción y discusión de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 14(1), 72-81.
- Tecnología y Alimentos*. (18 de diciembre de 2008). Recuperado el 1 de abril de 2017, de El almidón como beneficioso de la salud del consumidor: <https://tecnoyalimentos.wordpress.com/2008/12/18/el-almidon-como-beneficioso-de-la-salud-del-consumidor/>
- The Healthy TART. (s.f.). *Tempeh, Sweet Potato And Butternut Squash Hash*. Recuperado el 2 de octubre de 2017, de The Healthy TART: <https://thehealthytart.com/tempeh-sweet-potato-butternut-squash-hash/>
- The Telegraph. (s.f.). *Microcosmos: scanning electron microscope images of insects, household items and human body parts*. Recuperado el 2 de octubre de 2017, de The Telegraph: <http://www.telegraph.co.uk/news/science/picture-galleries/8050581/Microcosmos-scanning-electron-microscope-images-of-insects-household-items-and-human-body-parts.html?image=17>
- Veena, A., Asna, U., & Shashikala, P. (s.f.). Effect of processing on the composition of dietary fibre and starch in some legumes. *Die Nahrung*, 39(2), 132-138.
- Vera, A. (25 de octubre de 2016). *Los 6 alimentos más altos en almidón resistente*. Recuperado el 30 de agosto de 2017, de Dietas: <https://www.entrenamiento.com/nutricion/dietas/alimentos-mas-altos-en-almidon-resistente/>
- Vera, R., Gonzáles, N., Magaña, A., & Corona, A. (2011). Contenido de almidón resistente en alimentos consumidos en el sureste de México. *UNACAR TECNOCENCIA*, 5(2), 27-34.
- Villacres, E. (2013). Los granos andinos: Chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*), Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*), Amaranto (*Amaranthus caudatus L*) y Sangorache (*Amaranthus hybridus L*) fuente de metabolitos secundarios y fibra dietética. *Boletín técnico N° 165*, 7, 20-22.
- Villén, M. (03 de abril de 2012). *¿Qué es la fermentación?* Recuperado el 28 de agosto de 2017, de CONASI: <https://www.conasi.eu/blog/productos/levaduras-ecologicas-en-polvo-madre-pasteleria/que-es-la-fermentacion/>
- Voet, D., & Voet, J. (2006). *Bioquímica* (3 ed.). Buenos Aires: Editorial médica panamericana.
- Watson, B., & Smith, L. (2007). *La dieta fibra 35*. Bogotá: Grupo Norma.
- Wacher, C. (1 de agosto de 2014). *La biotecnología alimentaria antigua: los alimentos fermentados*. Recuperado el 20 de septiembre de 2017, de Revista digital universitaria UNAM: <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num8/art64/>

Zuñiga, K. (9 de junio de 2011). *Mecanismos de acción enzimática*. Recuperado el 2 de octubre de 2017, de Enzimas: <http://enzimass.blogspot.com/2011/06/mecanismos-de-accion-enzimatica.html>

ANEXOS

Anexo 1: Preparación de soluciones

SOLUCIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN TOTAL

- Ácido clorhídrico 0.31 N

Colocar una pequeña cantidad de agua en un balón aforado de 500 mL y agregar 12,83 mL de ácido clorhídrico al 37%. Aforar con agua destilada.

- Ácido clorhídrico al 25 %

Colocar una pequeña cantidad de agua en un balón aforado de 100 mL y agregar 67,56 mL de ácido clorhídrico al 37%. Aforar con agua destilada.

- Solución I : Ferrocianuro de potasio trihidratado al 15%

Pesar 15 gramos de Ferrocianuro de potasio trihidratado en un vaso de precipitación de 100 mL y disolver con agua destilada utilizando agitación continua. Transferir a un balón aforado de 100 mL y aforar con agua destilada.

- Solución II: Sulfato de zinc heptahidratado al 30%

Pesar 30 gramos de Sulfato de zinc heptahidratado en un vaso de precipitación de 100 mL y disolver con agua destilada utilizando agitación continua. Transferir a un balón aforado de 100 mL y aforar con agua destilada.

SOLUCIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE

- Soluciones proporcionadas en el KIT MEGAZYME (RESISTANT STARCH ASSAY PROCEDURE)

Botella 1: Amiloglucosidasa; 12 mL, 3300 U/ mL en almidón soluble a pH 4,5 y 40 °C.

Botella 2: α -amilasa pancreática

Botella 3: GOPOD REACTIVO BUFFER reactivo de color); Buffer (48 mL pH 7.4), p-hidroxi ácido benzoico y azida de sodio (0,4% p/v)

Botella 4: GOPOD REACTIVO DE ENZIMAS, glucosa oxidasa más peroxidasa y 4-aminoantipirina

Botella 5: D-Glucosa estándar, (5mL, 1 mg/mL) en 0,2 % p/v de ácido benzoico

Botella 6: Estándar de almidón resistente

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DEL KIT

Botella 1: Usar el contenido de la botella directamente.

- AMG diluida: diluir 2 mL de la botella 1 en 22 mL de maleato de sodio 0.1M pH 6, dividir en alícuotas de 5mL y almacenar en refrigeración hasta su uso.

Botella 2: Preparar el día de uso; suspender 1 gramo del contenido de la botella 2 en 100 mL de maleato de sodio 0.1M pH 6 y agitar por 5 minutos, adicionar 1 mL de AMG diluida y mezclar. Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm y decantar el sobrenadante, esta es la solución 2.

Botella 3: Diluir el contenido de la botella 3 en 1L de agua destilada.

Botella 4: Disolver el contenido de la botella 4 en 20 mL de la solución 3 y transferir al remanente de la solución 3. Dividir en alícuotas y almacenar en refrigeración.

Botella 5 y 6: Usar el contenido directamente.

- Maleato de sodio 0.1M pH 6

Disolver 11.6 gramos de ácido maleico en 800 mL de agua destilada y ajustar el pH a 6 con hidróxido de sodio 4M (160 gr/ L). Añadir 0.37 gramos de cloruro de calcio deshidratado y 0.2 gramos de azida de sodio y disolver, ajustar el volumen a 2 litros.

- Acetato de sodio 1,2 M pH 3.8

Añadir 69.6 mL de ácido acético glacial a 800 mL de agua destilada y ajustar el pH a 3.8 utilizando hidróxido de sodio 4 M. Ajustar el volumen a 1 litro con agua destilada.

- Acetato de sodio 100 mM pH 4.5

Añadir 5.8 mL de ácido acético glacial a 900 mL de agua destilada y ajustar el pH a 4.5 utilizando hidróxido de sodio 4M y ajustar el volumen a 1 litro con agua destilada.

- Hidróxido de potasio 2M

Añadir 112.2 g de hidróxido de potasio a 900 mL de agua destilada y disolver utilizando una plancha con agitación. Ajustar el volumen a 1L.

- Etanol acuoso 50% v/v

Añadir 500 mL de etanol al 99% v/v a 500 mL de agua destilada.

SOLUCIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL, SOLUBLE E INSOLUBLE

- Soluciones proporcionadas en el KIT MEGAZYME (TOTAL DIETARY FIBRE ASSAY PROCEDURE)

Botella 1: α - Amilasa termo estable, usar directamente

Botella 2: Proteasa; 50 mg/L, usar directamente

Botella 3: Amilogucosidasa; 3300 Unidades/mL, usar directamente

- Ácido clorhídrico 0.325 N

Colocar una pequeña cantidad de agua en un balón aforado de 250 mL y añadir 6.78 mL de ácido clorhídrico al 37%. Aforar con agua destilada.

- Hidróxido de sodio 0.275N

Colocar una pequeña cantidad de agua en un balón aforado de 250 mL y añadir 68.75 mL de hidróxido de sodio 1N (0.025g/L) y aforar con agua destilada.

- Tampón fosfato 0.08M pH 6

Disolver 1.4g de fosfato de sodio anhidro y 9.68g de fosfato de sodio monobásico monohidratado en 700 mL de agua destilada. Diluir a 1 litro con agua destilada y verificar el pH.

Anexo 2: Resultados obtenidos en los ensayos de fibra dietética total, soluble e insoluble

Tabla 9: Porcentaje de fibra dietética total obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.

MUES-TRA	PESO DE MUES-TRA (g)	PESO CRISOL VACIO (g)	PESO CRISOL +LANA (g)	PESO CRISOL+M SECA (g)	PESO CRISOL+ M INCINERADA (g)	% FDT	% CENI-ZA	% FDC
GRANO AMARGO								
450	1,006	27,024	27,271	27,625	27,309	35,189	1,118	34,071
450	1,000	26,949	27,193	27,522	27,212	32,900	1,100	31,800
451	1,005	25,345	25,893	26,393	25,932	49,751	1,714	48,037
451	1,003	26,315	26,820	27,320	26,764	49,850	1,998	47,852
criollo	1,001	26,526	26,761	27,110	26,807	34,865	1,091	33,774
criollo	1,001	26,764	27,110	27,430	27,129	31,968	1,071	30,897
GRANO DESAMARGADO								
450	1,006	27,424	27,661	28,159	27,841	49,503	1,109	48,394
450	1,008	25,344	25,538	26,048	25,728	50,595	1,205	49,390
451	1,009	26,911	27,167	27,708	27,389	53,617	1,132	52,485
451	1,004	26,314	26,527	27,062	26,740	53,287	1,170	52,117
criollo	1,008	26,765	27,000	27,544	27,028	53,968	1,842	52,126
criollo	1,002	27,025	27,216	27,755	27,244	53,792	1,811	51,982
GRANO FERMENTADO								
450	1,008	27,422	27,655	28,103	27,623	44,444	1,675	42,770
450	1,009	25,343	25,655	26,105	25,645	44,599	1,725	42,873
451	1,005	26,911	27,140	27,589	27,119	44,677	1,670	43,007
451	1,007	26,315	26,598	27,052	26,602	45,084	1,630	43,454
criollo	1,009	26,526	26,760	27,210	26,807	44,599	1,451	43,147
criollo	1,001	26,950	27,196	27,693	27,233	49,650	1,631	48,019

Tabla 10: Porcentaje de fibra dietética soluble obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.

MUES- TRA	PESO DE MUESTRA (g)	PESO CRISOL VACIO (g)	PESO CRISOL +LANA (g)	PESO CRISOL+M SECA (g)	PESO CRISOL+ M INCINERADA (g)	% FDS	% CENI- ZA	% FSC
GRANO AMARGO								
450	1,004	27,025	27,359	27,373	27,355	1,394	0,063	1,331
450	1,006	26,949	27,225	27,239	27,23	1,392	0,032	1,360
451	1,012	26,512	26,794	26,814	26,802	1,976	0,043	1,933
451	1,016	26,722	27,028	27,048	27,021	1,969	0,096	1,872
criollo	1,004	25,347	25,617	25,636	25,623	1,892	0,049	1,844
criollo	1,000	26,318	26,666	26,685	26,673	1,900	0,043	1,857
GRANO DESAMARGADO								
450	1,002	27,423	27,644	27,65	27,636	0,599	0,049	0,550
450	1,002	26,911	27,158	27,163	27,15	0,499	0,046	0,453
451	1,016	26,764	26,97	26,987	26,966	1,673	0,075	1,598
451	1,006	26,526	26,778	26,795	26,778	1,690	0,061	1,629
criollo	1,012	27,026	27,306	27,322	27,303	1,581	0,067	1,514
criollo	1,01	26,131	26,391	26,407	26,395	1,584	0,044	1,540
GRANO FERMENTADO								
450	1,001	25,343	25,605	25,608	25,584	0,300	0,090	0,209
450	1,008	27,422	27,594	27,597	27,585	0,298	0,042	0,256
451	1,006	26,91	27,138	27,149	27,129	1,093	0,071	1,022
451	1,002	26,947	27,165	27,176	27,16	1,098	0,057	1,041
criollo	1,009	26,99	27,202	27,21	27,186	0,793	0,085	0,708
criollo	1,001	27,535	27,685	27,693	27,669	0,799	0,084	0,716

Tabla 11: Porcentaje de fibra dietética insoluble obtenido en las diferentes variedades de chocho en los granos estudiados.

MUESTRA	PESO DE MUESTRA (g)	PESO CRISOL VACIO (g)	PESO CRISOL +LANA (g)	PESO CRISOL+ MSEC A (g)	PESO CRISOL+ M INCINERADA (g)	% FDI	% CENI-ZA	% FIC
GRANO AMARGO								
450	1,011	27,025	27,248	27,57	27,248	31,850	1,139	30,710
450	0,998	26,315	26,63	26,91	26,626	28,056	1,028	27,028
451	1,000	26,377	26,592	27,05	26,583	45,800	1,693	44,107
451	1,014	26,524	26,725	27,185	26,722	45,365	1,669	43,696
criollo	1,007	26,909	27,197	27,51	27,192	31,082	1,127	29,955
criollo	1,008	26,948	27,132	27,46	27,145	32,540	1,119	31,420
GRANO DESAMARGADO								
450	1,001	25,341	25,552	26,03	25,552	47,752	1,800	45,952
450	1,007	27,42	27,654	28,14	27,65	48,262	1,710	46,553
451	1,004	26,132	26,406	26,91	26,412	50,199	1,817	48,382
451	1,007	26,523	26,746	27,25	26,757	50,050	1,776	48,273
criollo	1,008	26,373	26,698	27,21	26,714	50,794	1,790	49,003
criollo	1,003	26,764	27,115	27,62	27,128	50,349	1,750	48,599
GRANO FERMENTADO								
450	1,008	27,415	27,655	28,09	27,66	43,155	1,500	41,655
450	1,007	25,342	25,66	26,095	25,665	43,198	1,612	41,585
451	1,01	27,024	27,171	27,615	27,177	43,960	1,554	42,406
451	1,009	25,342	25,583	26,023	25,587	43,608	1,640	41,968
criollo	1,009	26,908	27,18	27,615	27,199	43,112	1,476	41,636
criollo	1,011	26,949	27,168	27,645	27,175	47,181	1,668	45,513

Anexo 3: Análisis estadístico

Análisis estadístico Tukey con arreglo factorial $a \times b$ del porcentaje de almidón total obtenido en las tres variedades de chocho en los granos amargos, desamargados y fermentados.

Análisis de la varianza

Variable N R² R² Aj CV
Almidón 27 0,99 0,98 4,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	11,44	8	1,43	160,63	<0,0001
Factor A	3,49	2	1,75	196,17	<0,0001
Factor B	7,34	2	3,67	412,38	<0,0001
Factor A*Factor B	0,60	4	0,15	16,99	<0,0001
Error	0,16	18	0,01		
Total	11,60	26			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11349

Error: 0,0089 gl: 18

Factor A Medias n E.E.

451	2,42	9	0,03	A
Criollo	1,73	9	0,03	B
450	1,60	9	0,03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11349

Error: 0,0089 gl: 18

Factor B Medias n E.E.

Amargo	2,61	9	0,03	A
Fermentado	1,79	9	0,03	B
Desamargado	1,35	9	0,03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,26988

Error: 0,0089 gl: 18

Factor A Factor B Medias n E.E.

451	amargo	2,93	3	0,05	A
Criollo	amargo	2,64	3	0,05	B
451	fermentado	2,55	3	0,05	B
450	amargo	2,27	3	0,05	C
451	desamargado	1,79	3	0,05	D
450	fermentado	1,42	3	0,05	E
Criollo	fermentado	1,42	3	0,05	E

Criollo desamargado	1,13	3	0,05	F
450 desamargado	1,13	3	0,05	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis estadístico Tukey con arreglo factorial $a \times b$ del porcentaje de almidón resistente obtenido en las tres variedades de chocho en los granos amargos, desamargados y fermentados.

Análisis de la varianza

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Almidón resistente	27	1,00	1,00	2,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0,42	8	0,05	757,12	<0,0001
Factor A	0,27	2	0,14	1931,05	<0,0001
Factor B	0,14	2	0,07	986,08	<0,0001
Factor A*Factor B	0,02	4	3,9E-03	55,67	<0,0001
Error	1,3E-03	18	7,0E-05		
<u>Total</u>	<u>0,43</u>	<u>26</u>			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01007

Error: 0,0001 gl: 18

Factor A Medias n E.E.

Criollo	0,44	9	2,8E-03	A
450	0,24	9	2,8E-03	B
451	0,22	9	2,8E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01007

Error: 0,0001 gl: 18

Factor B Medias n E.E.

Amargo	0,40	9	2,8E-03	A
Desamargado	0,28	9	2,8E-03	B
Fermentado	0,23	9	2,8E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02394

Error: 0,0001 gl: 18

Factor A Factor B Medias n E.E.

Criollo amargo	0,57	3	4,8E-03	A
Criollo desamargado	0,38	3	4,8E-03	B
Criollo fermentado	0,37	3	4,8E-03	B
450 amargo	0,33	3	4,8E-03	C

451	amargo	0,29	3	4,8E-03	D
451	desamargado	0,24	3	4,8E-03	E
450	desamargado	0,22	3	4,8E-03	E
450	fermentado	0,16	3	4,8E-03	F
451	fermentado	0,14	3	4,8E-03	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis estadístico Tukey con arreglo factorial $a \times b$ del porcentaje de fibra dietética total obtenido en las tres variedades de chocho en los granos amargos, desamargados y fermentados.

Análisis de la varianza

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Fibra total	18	0,98	0,96	3,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	871,49	8	108,94	50,85	<0,0001
Factor A	125,59	2	62,79	29,31	0,0001
Factor B	535,31	2	267,65	124,93	<0,0001
Factor A*Factor B	210,60	4	52,65	24,57	0,0001
Error	19,28	9	2,14		
Total	890,77	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,35944

Error: 2,1424 gl: 9

Factor A Medias n E.E.

451	47,83	6	0,60	A
Criollo	43,32	6	0,60	B
450	41,55	6	0,60	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,35944

Error: 2,1424 gl: 9

Factor B Medias n E.E.

Desamargado	51,08	6	0,60	A
Fermentado	43,88	6	0,60	B
<u>Amargo</u>	<u>37,74</u>	<u>6</u>	<u>0,60</u>	<u>C</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,79050

Error: 2,1424 gl: 9

Factor A Factor B Medias n E.E.

451	desamargado	52,30	2	1,03	A
Criollo	desamargado	52,05	2	1,03	A
450	desamargado	48,89	2	1,03	A B
451	amargo	47,94	2	1,03	A B C
Criollo	fermentado	45,58	2	1,03	B C
451	fermentado	43,23	2	1,03	B C
450	fermentado	42,82	2	1,03	C
450	amargo	32,94	2	1,03	D
Criollo	amargo	32,34	2	1,03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis estadístico Tukey con arreglo factorial $a \times b$ del porcentaje de fibra dietética soluble obtenido en las tres variedades de chocho en los granos amargos, desamargados y fermentados.

Análisis de la varianza

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
Fibra soluble	18	1,00	1,00	2,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	5,81	8	0,73	710,15	<0,0001
Factor A	2,30	2	1,15	1123,34	<0,0001
Factor B	3,25	2	1,63	1591,11	<0,0001
Factor A*Factor B	0,26	4	0,06	63,08	<0,0001
Error	0,01	9	1,0E-03		
Total	5,82	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05155

Error: 0,0010 gl: 9

Factor A Medias n E.E.

451	1,52	6	0,01	A
Criollo	1,36	6	0,01	B
450	0,69	6	0,01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05155

Error: 0,0010 gl: 9

Factor B Medias n E.E.

Amargo	1,70	6	0,01	A
Desamargado	1,21	6	0,01	B
Fermentado	0,66	6	0,01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12652

Error: 0,0010 gl: 9

Factor A	Factor B	Medias	n	E.E.	
451	amargo	1,90	2	0,02	A
Criollo	amargo	1,85	2	0,02	A
451	desamargado	1,61	2	0,02	B
Criollo	desamargado	1,53	2	0,02	B
450	amargo	1,35	2	0,02	C
451	fermentado	1,03	2	0,02	D
Criollo	fermentado	0,71	2	0,02	E
450	desamargado	0,50	2	0,02	F
450	fermentado	0,23	2	0,02	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis estadístico Tukey con arreglo factorial $a \times b$ del porcentaje de fibra dietética insoluble obtenido en las tres variedades de chocho en los granos amargos, desamargados y fermentados.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fibra insoluble	18	0,98	0,96	3,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	818,91	8	102,36	58,24	<0,0001
Factor A	106,94	2	53,47	30,42	0,0001
Factor B	538,26	2	269,13	153,12	<0,0001
Factor A*Factor B	173,71	4	43,43	24,71	0,0001
Error	15,82	9	1,76		
Total	834,73	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,13704

Error: 1,7576 gl: 9

Factor A	Medias	n	E.E.
451	44,81	6	0,54
Criollo	41,02	6	0,54
450	38,91	6	0,54

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,13704

Error: 1,7576 gl: 9

Factor B	Medias	n	E.E.
Desamargado	47,79	6	0,54

Fermentado 42,46 6 0,54 B
Amargo 34,49 6 0,54 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,24470

Error: 1,7576 gl: 9

Factor A Factor B Medias n E.E.

Criollo desamargado 48,80 2 0,94 A
 451 desamargado 48,33 2 0,94 A
 450 desamargado 46,25 2 0,94 A B
 451 amargo 43,90 2 0,94 A B
 Criollo fermentado 43,57 2 0,94 A B
 451 fermentado 42,19 2 0,94 B
 450 fermentado 41,62 2 0,94 B
 Criollo amargo 30,69 2 0,94 C
450 amargo 28,87 2 0,94 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 4: Cálculos

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE ALMIDÓN TOTAL

$$\% \text{Almidón total} = (a-b) \times f$$

$$\% \text{Almidón total} = (1,100 - 0,700) \times 5,662$$

$$\% \text{Almidón total} = 2,265$$

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE ALMIDÓN RESISTENTE EN EL ESTÁNDAR

-Cálculo de Factor F: 100/ absorbancia de control de glucosa

$$F = 100/1.05$$

$$F = 95,23$$

$$\% \text{Almidón resistente} = \text{Absorbancia} \times \frac{F}{W} \times 90$$

$$\% \text{Almidón resistente} = 0,501 \times \frac{95,23}{100} \times 90$$

$$\% \text{Almidón resistente} = 42,939$$

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE ALMIDÓN RESISTENTE EN LAS MUESTRAS

$$\% \text{Almidón resistente} = \text{Absorbancia} \times \frac{F}{W} \times 9,27$$

$$\% \text{Almidón resistente} = 0,037 \times \frac{95,23}{100} \times 9,27$$

$$\% \text{Almidón resistente} = 0,327$$

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL

$$\% \text{ FDT} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ FDT} = \frac{27,652\text{g} - 27,271\text{g}}{1,006\text{g}}$$

$$\% \text{ FDT} = 35,189$$

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{27,265\text{g} - 27,309\text{g}}{1,006\text{g} + 27,271} \times 100$$

$$\% \text{ CENIZA} = 1,118$$

$$\% \text{ FDT corregida} = 35,189\text{g} - 1,118 \text{ g}$$

$$\% \text{ FDT corregida} = 34,071$$

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE

$$\% \text{ FDT} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ FDS} = \frac{27,373\text{g} - 27,359\text{g}}{1,004\text{g}}$$

$$\% \text{ FDS} = 1,394$$

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{27,373\text{g} - 27,355\text{g}}{1,004\text{g} + 27,359} \times 100$$

$$\% \text{ CENIZA} = 0,063$$

$$\%FDS \text{ corregida} = 1.394\text{g} - 0.063 \text{ g}$$

$$\%FDS \text{ corregida} = 1,331$$

EJEMPLO DE CÁLCULO DE PORCENTAJE DE FIBRA DIETÉTICA INSOLUBLE

$$\% \text{ FDT} = \frac{\text{Peso del crisol+lana+muestra seca en estufa} - \text{Peso del crisol+lana}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

$$\%FDI = \frac{27.570\text{g} - 27,248\text{g}}{1,011\text{g}}$$

$$\%FDI = 31,850$$

$$\% \text{ CENIZA} = \frac{27,570\text{g} - 27,248\text{g}}{1.011\text{g} + 27,248} \times 100$$

$$\% \text{ CENIZA} = 1,139$$

$$\%FDI \text{ corregida} = 31,850\text{g} - 1,139 \text{ g}$$

$$\%FDI \text{ corregida} = 30,710$$

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Xiomara Cristina Jácome Ramírez, con C.I. 172424060-9, autora del trabajo de graduación titulado: “Efecto del proceso de desamargado y fermentado en el contenido de fibra dietética y almidón en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Criollo y Guaranguito INIAP 451)”, previo la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.

2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 07 de noviembre de 2017

Xiomara Cristina Jácome Ramírez

C.I 172424060-9