



RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad determinar el nivel óptimo de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado (*Amaranthus hybridus*) para la elaboración de galletas dulces. Para ello se establecieron 5 formulaciones de galletas en base a distintos porcentajes de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, cuyos niveles de sustitución fueron del 0, 20, 25, 30 y 35%.

Se estudiaron las características microbiológicas, fisicoquímicas, bromatológicas en la materia prima “harina integral de amaranto tostado”, comparándola con la harina de trigo, así como también se evaluó las características microbiológicas, fisicoquímicas, bromatológicas y sensoriales del producto “Galletas de Amaranto” comparándola con una galleta testigo (100% harina de trigo).

Además, se realizó la detección de compuestos fenólicos y flavonoides mediante reacciones de identificación, en las semillas, harina integral e inflorescencias de la planta *A. hybridus*, así como la identificación del Flavonoide Quercetina por cromatografía en capa fina en las mismas muestras y por último, la cuantificación del contenido total de flavonoides, por medio de espectrofotometría UV-V en la harina integral de amaranto e inflorescencias de *A. hybridus*.



INDICE

INTRODUCCION----- 9

CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES

Alimentos-----	12
Composición química de los alimentos-----	12
1.1. AMARANTO -----	15
1.1.1. Historia -----	16
1.1.2. Taxonomía -----	16
1.1.3. Variedades de la planta-----	17
1.1.4. Descripción de la planta -----	18
1.1.5. Usos y formas de preparación -----	21
1.1.6. Principales formas de transformación y uso industrial del grano de amaranto.-----	24
1.1.7. Nutrición y composición química del amaranto-----	26
1.1.7.1. Proteína del amaranto-----	27
1.1.7.2. Grasas o lípidos -----	29
1.1.7.3. Glúcidos o carbohidratos -----	30
1.1.7.3.1. Fibra en el amaranto-----	30
1.1.7.4. Minerales -----	30
1.1.8. Alimentos funcionales -----	31
1.1.8.1. Fibra dietética como alimento funcional-----	32
1.1.8.2. Compuestos fitoquímicos -----	33
1.2. HARINA DE TRIGO	
1.2.1. Composición de la Harina de Trigo -----	35
1.3. HARINAS COMPUESTAS -----	37
1.4. GALLETAS	
1.4.1. Definición -----	38



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. Materia prima-----40

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Obtención de harina integral de amaranto tostado-----40
2.2.2. Diseño de formulación de harinas compuestas para
la elaboración de galletas de amaranto-----43
2.2.3. Galletas----- 43
2.2.3.1. Formulación de las galletas de amaranto-----43
2.2.3.2. Elaboración de las galletas de amaranto. -----44
2.2.3.3. Descripción del proceso de elaboración de galletas
de amaranto-----46

2.3. ANÁLISIS DE LAS HARINAS DE TRIGO, HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y GALLETAS

2.3.1. Análisis microbiológico-----52
2.3.1.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos,
E. coli/coliformes y mohos y levaduras empleando
placas petrifilm.-----
-----53
2.3.1.2. Salmonella -----56
2.3.2. Análisis fisicoquímico y bromatológicos----- 57
2.3.2.1. Humedad ----- 58
2.3.2.2. Acidez titulable ----- 58
2.3.2.3. pH ----- 59
2.3.2.4. Proteína ----- 60
2.3.2.5. Grasa ----- 61
2.3.2.6. Fibra cruda ----- 62
2.3.2.7. Hidratos de carbono ----- 62
2.3.2.8. Cenizas ----- 63
2.3.2.9. Calcio ----- 63
2.3.2.10. Hierro ----- 64
2.3.2.11. Fósforo ----- 65



2.3.3. Análisis fitoquímico-----	65
2.3.3.1. Determinación de sustancias solubles-----	65
2.3.3.2. Identificación de compuestos fenólicos e identificación y cuantificación flavonoides -----	66
2.3.3.2.1. Muestras-----	66
2.3.3.2.2. Obtención de los extractos-----	66
2.3.3.2.3. Análisis cualitativo-----	69
2.3.3.2.4. Cuantificación de flavonoides totales-----	71

2.4. ANÁLISIS SENSORIAL DE LAS GALLETAS

2.4.1. Descripción de algunos atributos de los alimentos-----	73
2.4.2. Evaluación hedónica -----	74
2.4.3. Degustación de las “Galletas de amaranto”-----	74
2.4.3.1. Procedimiento de degustación de las “Galletas de amaranto”-----	75

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. ANÁLISIS DE HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y HARINA DE TRIGO

3.1.1. Análisis Microbiológicos para la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.-----	80
3.1.2. Análisis Físicoquímicos y Bromatológicos para la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo-----	81
3.1.2.1. Humedad -----	82
3.1.2.2. Acidez titulable -----	83
3.1.2.3. Proteína -----	84
3.1.2.4. Grasa -----	85
3.1.2.5. Fibra cruda -----	86
3.1.2.6. Hidratos de carbono -----	87
3.1.2.7. Cenizas -----	88
3.1.2.8. Calcio -----	89
3.1.2.9. Hierro -----	90
3.1.2.10. Fósforo -----	91



3.1.3.	Análisis fitoquímico para la harina integral de amaranto	92
3.1.3.1.	Determinación de sustancias solubles	92
3.1.3.2.	Identificación de compuestos fenólicos e identificación y cuantificación de flavonoides	93
3.1.3.2.1.	Obtención de extracto seco	93
3.1.3.2.2.	Análisis cualitativo	94
3.1.3.2.3.	Análisis cuantitativo	95
3.2.	ANÁLISIS DE LAS GALLETAS	
3.2.1.	Análisis Microbiológico para las galletas	96
3.2.2.	Análisis Físicoquímico y Bromatológico de galletas	97
3.2.2.1.	Humedad	97
3.2.2.2.	pH	98
3.2.2.3.	Proteína	100
3.2.2.4.	Grasa	101
3.2.2.5.	Fibra cruda	102
3.2.2.6.	Hidratos de carbono	103
3.2.2.7.	Cenizas	104
3.2.2.8.	Calcio	106
3.2.2.9.	Hierro	107
3.2.2.10.	Fósforo	108
3.3.	ANÁLISIS SENSORIAL	109
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	122
5.	BIBLIOGRAFIA	126
7.	ANEXOS	133



INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Requisitos para la harina de trigo -----	133
Anexo 2: Requisitos para las galletas. -----	135
Anexo 3: Análisis microbiológico en placas petrifilm de aerobios, <i>E. coli</i> /coliformes, mohos y levaduras -----	137
Anexo 4: Análisis microbiológico para <i>Salmonella</i> -----	140
Anexo 5: Determinación de la pérdida por calentamiento. -----	141
Anexo 6: Determinación de la Acidez titulable. -----	142
Anexo 7: Determinación de pH en solución acuosa al 10%.-----	144
Anexo 8: Determinación de Proteínas. -----	145
Anexo 9: Determinación de Grasa. -----	148
Anexo 10: Determinación de Fibra cruda. -----	150
Anexo 11: Determinación de Ceniza. -----	152
Anexo 12: Determinación de Calcio por absorción atómica. -----	154
Anexo 13: Determinación de Hierro por espectrofotometría. -----	160
Anexo 14: Determinación de Fósforo por espectrofotometría. -----	166
Anexo 15: Determinación de sustancias solubles. -----	173
Anexo16: Curva de calibración para cuantificación de flavonoides por espectrofotometría UV-V-----	174
Anexo 17: Datos de los Análisis efectuados-----	175



**“VALOR NUTRITIVO Y FUNCIONAL DE LA HARINA DE
AMARANTO (*Amaranthus hybridus*) EN
LA PREPARACIÓN DE GALLETAS”**

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

DIRECTORA DE TESIS:

MST. ADELINA ASTUDILLO

AUTORAS:

PRISCILA GUADALUPE CRIOLLO MINCHALO
SANDRA ISABEL FAJARDO CARMONA

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA
CUENCA - ECUADOR**

2010



AGRADECIMIENTO

Nuestros sinceros agradecimientos
a nuestra Directora de Tesis Doctora Adelina Astudillo,
al Doctor Rolando Valdiviezo,
al Doctor Fabián León,
al Doctor Fausto Moscoso,
a la Ingeniera Ruth Cecilia Álvarez,
al Ingeniero Eduardo Peralta, Investigador principal del
Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos del INIAP
y a todas las personas quienes contribuyeron
en la realización de la presente tesis.

Las Autoras



INTRODUCCIÓN

El nombre amaranto engloba una serie de especies de la familia de las amarantáceas, donde se incluye el ataco o sangorache como se conoce en Ecuador (1).

Tradicionalmente, el ataco o sangorache son cultivadas en la sierra ecuatoriana aisladamente, su uso ha sido muy limitado y en muchas localidades se ha perdido, a pesar del gran potencial que tiene tanto para la agricultura como para la alimentación, superando a los cereales más importantes en algunos nutrientes, siendo más notable el contenido y calidad de su proteína (respecto al contenido de aminoácidos esenciales).

A partir de la década de 1980, el amaranto cobra importancia, debido a los aspectos nutricionales beneficiosos que presentan algunos de sus componentes y sus ventajas agronómicas. Es así que en Ecuador en 1982 el INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias) inició la recolección del germoplasma de ataco o sangorache a lo largo del callejón interandino. Todo el material genético encontrado fue de grano negro, concluyendo que de acuerdo a las características morfológicas se trataba de *Amaranthus hybridus* L o *Amaranthus quitensis* H.B.K (2).

En nuestro país en el año 2009, en base al interés del Gobierno, a través del Ministerio de Salud, para trabajar en alternativas que permitan luchar contra la desnutrición, anemia, etc., se está promocionando el uso y diversificación de alimentos ricos en aminoácidos esenciales, minerales como el hierro, zinc, etc., siendo el ataco una alternativa, por su alto valor nutritivo (3).

Por lo que con miras a mejorar la calidad y aporte nutricional en los productos de panificación, con el desarrollo del presente trabajo, se desea diseñar y elaborar una harina compuesta por harina de trigo y harina integral de amaranto tostado que permita ofrecer un producto panificable, en este caso galletas, aprovechando el alto contenido en macro y micro nutrientes



que posee el amaranto (*A. hybridus*), dándole así un valor agregado al producto panificable que se pueda obtener de esta mezcla.

Además, teniendo en cuenta que el amaranto aparte de su importancia nutricional, se destaca por su contenido en principios bioactivos, que se definen como componentes que influyen positivamente en las actividades fisiológicas y celulares del organismo, generando efectos beneficiosos para la salud, como es su contenido en Flavonoides con propiedades antioxidantes y su contenido en fibra dietética, que le dan características de un “Alimento funcional”, de esta manera ofrecer un alimento novedoso, natural y con un alto valor nutritivo.

A más del aporte nutricional que se busca en el producto “Galletas de amaranto”, se tiene en cuenta las características sensoriales apropiadas del producto, como son el aspecto general, sabor, color, olor y textura de la galleta, para obtener un buen producto final.



CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES



CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES

Antes del desarrollo del contenido de la presente Tesis, se cree conveniente la descripción de los componentes químicos de los alimentos, para una mejor comprensión del tema.

ALIMENTOS

Los alimentos son sustancias que, introducidas en el organismo, son utilizadas por éste para su crecimiento, para el buen funcionamiento de los órganos vitales y para obtener la energía necesaria para las distintas actividades.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

Desde el punto de vista dietético, en la composición química de los alimentos se consideran:

- a) Agua, que confiere peso y volumen.
- b) Glúcidos o carbohidratos.
- c) Grasa o lípidos.
- d) Proteínas.
- e) Vitaminas.
- f) Minerales.

Estos nutrientes se encuentran heterogéneamente almacenados en los alimentos, por tanto, la dieta, es decir, el conjunto de alimentos que conforman nuestros hábitos alimenticios, tienen importantes funciones suministradoras de estos componentes esenciales, sin cuya presencia el organismo no puede subsistir (4).



Descripción de los componentes químicos de los Alimentos:

AGUA

Es el componente más abundante de cualquier dieta, y se debe consumir no solo en forma de comida, sino también de bebida. El hombre debe ingerir de 2 a 2.5 litros de agua al día. La mayor parte de esta agua se elimina por transpiración, expiración, por las heces y por la vía renal.

GLÚCIDOS O CARBOHIDRATOS

Son glúcidos totales el conjunto de glúcidos fácilmente solubilizables que pueden existir en un alimento o forraje, o sea, principalmente glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, dextrina y almidón, sin incluir los que forman la fibra o residuo celulósico (5).

Constituyen la principal fuente de energía en la dieta humana. El azúcar más importante desde este punto de vista es el almidón, sustancia de reserva en los vegetales.

FIBRA DIETÉTICA

La fibra dietética está representada por los componentes de la pared celular de los vegetales, que no puede ser digerida por las enzimas del hombre y de los animales, por ejemplo: celulosa, hemicelulosa, lignina, gomas, pectinas y pentosanós (6).

Se distinguen dos tipos de fibra: fibra **insoluble** como la celulosa y la lignina encontradas en el salvado de trigo y fibra **soluble** como gomas y pectinas que se encuentran en legumbres y frutas.

Se recomienda una cantidad mínima de 30g de fibra por persona al día, de la cual al menos un 30% debe ser fibra soluble (7).

LIPIDOS

Aparte de incrementar el sabor agradable del alimento y de producir una sensación de saciedad, los lípidos de los alimentos tienen dos funciones



esenciales en la nutrición: actúan como vehículo alimentario de las vitaminas liposolubles y suministran ácidos grasos poliinsaturados esenciales, que el cuerpo es incapaz de sintetizar, como el ácido linoleico ($\omega 6$, 18:2) y el ácido α -linolénico ($\omega 3$, 18:3), presentes en los lípidos de alimentos vegetales y animales.

PROTEÍNAS

Las proteínas son moléculas formadas por aminoácidos. El cuerpo requiere de 20 aminoácidos diferentes para sintetizar proteínas, de estos, nueve aminoácidos son esenciales en el hombre, que son aquellos que el organismo no puede sintetizar y por tanto debe recibirlos de los alimentos, estos son: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina.

VITAMINAS

Las vitaminas son las moléculas orgánicas que el hombre no puede sintetizar, y que resultan imprescindibles para un normal crecimiento, desarrollo y reproducción. Se suelen dividir de acuerdo a su naturaleza química y su procedencia, en **vitaminas liposolubles** (A, D, E, K) e **hidrosolubles** (C, Complejo B).

MINERALES

Constituyen un grupo de nutrientes (aproximadamente 20) que no suministran energía al organismo pero que tienen importantes funciones reguladoras además de su función plástica al formar parte de la estructura de muchos tejidos. Dentro de ellos pueden distinguirse dos grandes grupos:

- Macrominerales: calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio y cloro.
- Microminerales (oligoelementos): hierro, zinc, yodo, manganeso, flúor, selenio, cobalto, cobre y cromo.

1.1. AMARANTO

Es una planta de origen andino, que pertenece a la familia de las amarantáceas, que en Ecuador tradicionalmente se conoce con el nombre de ataco, sangorache o sangoracha y que corresponde a la especie *Amaranthus hybridus*, cuya planta es de color rojo a morado y que produce semillas de color negro.

El grano de amaranto, junto con la quinua y el trigo forrajero, son considerados como **pseudocereales**, se denominan así porque sus semillas son como las de los cereales, ricos en materiales harinosos y aptos para la panificación, pero pertenecen a las dicotiledóneas, que son distintas a las monocotiledóneas gramíneas, llamadas cereales verdaderos, como el arroz, el sorgo, el maíz y el trigo.

Debido a que las dicotiledóneas no contienen gluten, son fácilmente digeribles, lo que ha provocado un auge en el consumo de estos alimentos en los últimos años, sobre todo en países europeos donde es mayor la incidencia de la enfermedad celíaca (intolerancia al gluten) (8).

Una ventaja de los pseudocereales es que crecen de forma rústica y son adaptables a varios ambientes, es decir, son resistentes a bajas temperaturas, alta salinidad y sequías, entre otras condiciones adversas.



Figura 1. Planta de amaranto (*Amaranthus hybridus*).



1.1.1. HISTORIA

El grano de amaranto se domesticó en América hace más de 4000 años por culturas precolombinas y de allí posiblemente se difundió a otras partes del mundo. Históricamente, el origen o domesticación del amaranto se ha ubicado en Centro y Norteamérica (Guatemala y México) y Sudamérica (Ecuador, Perú y Bolivia) (2).

El amaranto fue uno de los principales productos para la alimentación de las culturas precolombinas de América. Fue cultivado y utilizado junto al maíz, frijol y calabaza por los Aztecas y Mayas en Guatemala y México, y junto a la papa, maíz y quinua por los Incas tanto en Perú, Bolivia como Ecuador.

El amaranto estuvo asociado a los ritos religiosos, por lo que con la llegada de los españoles a América y durante la conquista, el amaranto fue eliminado de la dieta indígena, prohibiendo su uso por considerarlo parte de las ceremonias paganas.

Por lo que el cultivo y consumo del amaranto casi desaparecen, la producción de amaranto se mantuvo solamente en los lugares más apartados de la conquista española.

1.1.2. TAXONOMÍA

El amaranto (*A. hybridus*) tiene la siguiente clasificación botánica:

Cuadro 1. Clasificación botánica del amaranto (*A. hybridus*) (1).

Reino	Vegetal
División	Fanerógama
Tipo	<i>Embryophyta siphonogama</i>
Subtipo	Angiosperma
Clase	<i>Dicotyledoneae</i>
Subclase	<i>Archyclamidaeae</i>
Orden	<i>Centrospermales</i>



Familia	<i>Amaranthaceae</i>
Género	<i>Amaranthus</i>
Especie	<i>A. hybridus</i> / <i>A. quitensis</i>
Nombre científico	<i>Amaranthus hybridus</i> L.- <i>Amaranthus quitensis</i> H.B.K.
Nombres comunes	Ataco, sangorache, sangoracha.

1.1.3. VARIEDADES DE LA PLANTA

El amaranto es una planta perteneciente a la familia de las amarantáceas, la cual posee 70 géneros y más de 850 especies. El género *Amaranthus* tiene más de 60 especies, siendo las más importantes y conocidas las siguientes (9):

- *Amaranthus caudatus* L.,
- *Amaranthus hypochondriacus* L.,
- *Amaranthus cruentus* L.,
- *Amaranthus hybridus* L.,
- *Amaranthus tricolor* L.,
- *Amaranthus blitum* L.,
- *Amaranthus dubius* L.
- *Amaranthus virides* L.

Existen tres especies de amaranto de grano comestible: *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*, las que son todavía cultivadas en forma aislada en los valles montañosos de México, América Central y América del Sur.

La especie *A. caudatus* es conocida en la Región Andina, tiene panojas largas, cargadas de grano comestible (10).

En nuestro país y en la región Sierra, ancestralmente se ha cultivado el ataco o sangorache, que por sus características botánicas, morfológicas, etc., se considera que se trata de ***Amaranthus hybridus*** (1).



Figura 2. Planta e inflorescencia de *Amaranthus hybridus* L.

1.1.4. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA

El *A. hybridus* es una planta anual de tipo arbustivo herbáceo, erecta, poco ramificada, de color verde al inicio del crecimiento y morado o púrpura a la madurez (2).

Raíz: es pivotante profunda con muchas raíces laterales.

Tallo: es de forma cilíndrica, con ángulos y estrías gruesas longitudinales, de color morado o púrpura que puede alcanzar hasta 2 m de altura.

Hojas: son simples, ovaladas, pecioladas, alternas u opuestas, pueden llegar a medir 15 cm de largo y 10 cm de ancho, verdes cuando jóvenes y rojas, moradas o púrpuras a la madurez.

Inflorescencias: las inflorescencias son terminales o axilares, muy vistosas, erectas o decumbentes, de color morado o púrpura intenso. Se agrupan y forman la panoja, el largo de la panoja madura puede llegar hasta 50 cm.

Fruto: es una cápsula pequeña que botánicamente corresponde a un pixidio unilocular, que a la madurez se abre para dejar caer la parte superior u opérculo, dejando al descubierto la parte inferior llamada urna, donde se aloja la semilla, la misma que se desprende fácilmente, dando lugar a una fuerte dehiscencia o caída de las semillas.

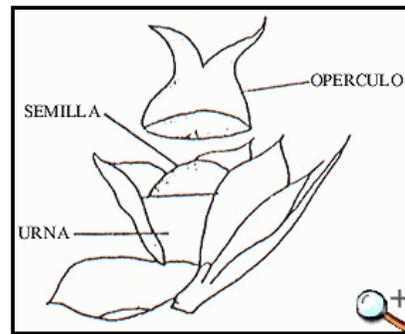


Figura 3. Píxido unilocular del amaranto (9).

Semilla: es muy pequeña, lisa, brillante, de color negro o púrpura, es dura, lo cual genera dificultad al moler y revienta con dificultad.

Cuadro 2. Descripción morfológica de las semillas de *A. hybridus* (3).

Descripción morfológica de las semillas de <i>A. hybridus</i>	
Color del grano seco	Negro
Tamaño del grano	0.6 a 1.2 mm
Forma del grano	Redondo
Número de semillas por gramo	1800

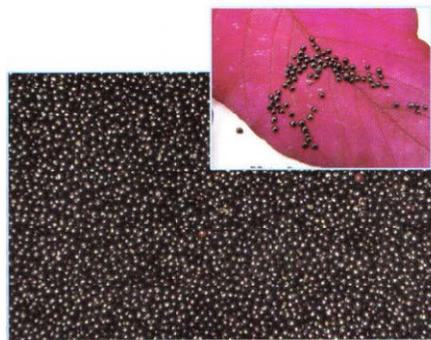


Figura 4. Granos o semillas de *A. hybridus*.

Partes de la semilla del amaranto: en el grano o semilla del amaranto se distinguen cuatro partes importantes:

- ✓ **Episperma:** es la cubierta de la semilla, constituida por una capa de células muy finas.

- ✓ **Endosperma:** es la segunda capa de la semilla.
- ✓ **Embrión o germen:** esta formado por los cotiledones, es la parte más rica en proteínas.
- ✓ **Perisperma:** es la parte más interna, rica en almidones.

El embrión y la cubierta del grano de amaranto, constituyen un 26% de la semilla y el perisperma (harina) constituye un 74%.

El embrión en comparación a los cereales es bastante grande y de éste se puede obtener hasta un 30% de proteína y un 20% de aceite vegetal (11).

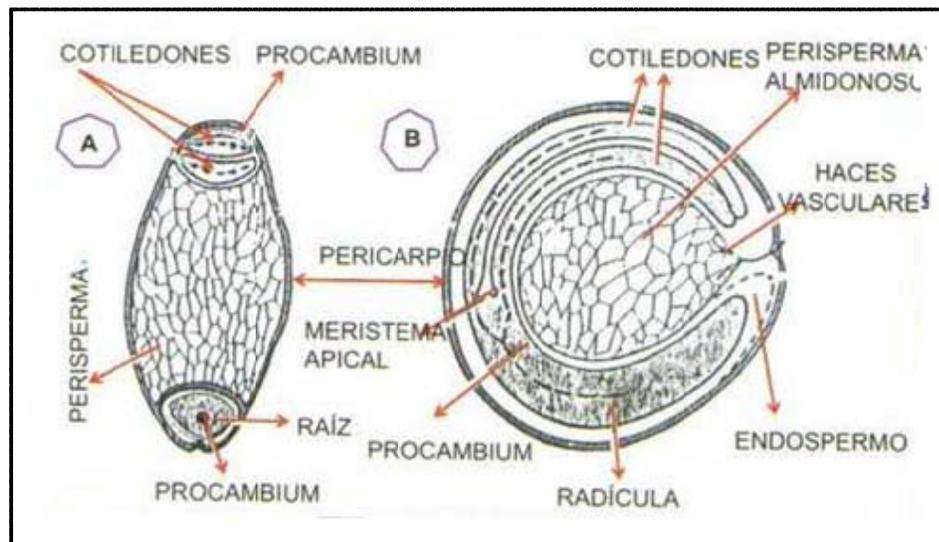


Figura 5. Diagrama de secciones transversal (a) y longitudinal (b) de semilla de amaranto (1)

Estructura morfológica de la semilla de amaranto comparada con el trigo.

Mientras en los cereales (trigo) el embrión se localiza dentro del endosperma almidonado, en los pseudocereales (amaranto) el embrión rodea en forma de un anillo el tejido almidonado, que en este caso es el perisperma (12).

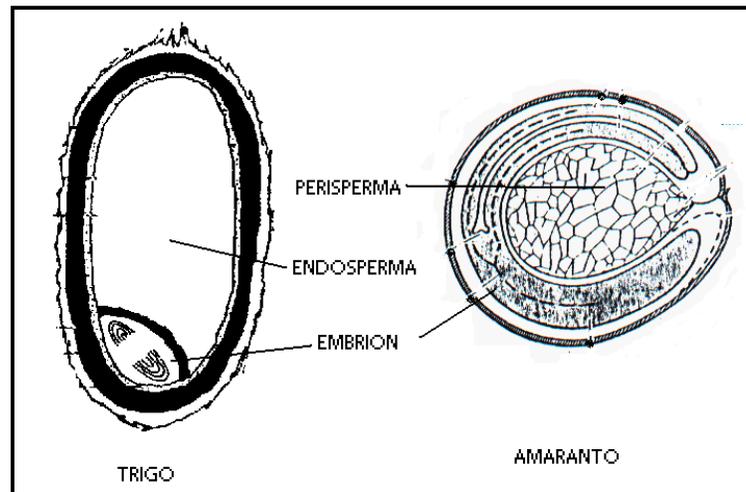


Figura 6. Estructura de la semilla de amaranto comparada con el trigo.

1.1.5. USOS Y FORMAS DE PREPARACIÓN

El amaranto tiene múltiples usos tanto en la alimentación humana y animal como en la industria, medicina y en la ornamentación.

a) Alimentación humana:

Granos

El grano de amaranto presenta un alto valor nutritivo, se puede convertir en productos convencionales de tipo cereal (9):

- ✓ El grano reventado del amaranto puede consumirse de manera directa o en granola, para ello el grano bien seco se coloca en un recipiente muy caliente, sin aceite y revienta.

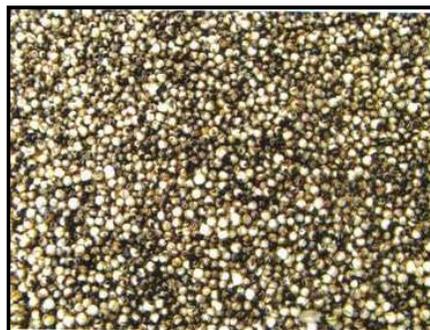


Figura 7. Grano expandido del amaranto (*A. hybridus*).



- ✓ A partir del grano crudo, tostado o precocado, se puede obtener harina, que adecuadamente envasada se pueden utilizar para preparar:

Pasteles, panes, tamales, humitas, tortillas, bebidas refrescantes y alcohólicas (Chicha en la zona andina).

En la panificación, se puede sustituir la harina de trigo con un 15% de harina de amaranto, obteniéndose panes de mayor valor nutritivo, mayor grasa, fibra y fracciones minerales.

Hojas

- ✓ Las hojas se consumen en estado tierno igual que otras hortalizas de hojas, pero con mayores ventajas nutritivas y económicas, para lo cual se hacen hervir como si fuera espinaca o acelga y luego se puede licuar y obtener puré.
- ✓ Las hojas enteras pueden ser utilizadas directamente en las sopas.

b) Alimentación animal:

- ✓ La planta al estado fresco hasta la formación de la inflorescencia se utiliza como forrajera para la alimentación del ganado sobretodo para combinar con otras especies forrajeras.
- ✓ Los granos hacen una magnífica combinación con otros granos para alimentar aves de corral, también sirven para preparar cualquier otro tipo de alimento balanceado para uso animal.

c) Industria:

- ✓ En la industria se utiliza la broza de la inflorescencia después de la trilla del grano, especialmente aquellas que tienen colores púrpuras, rojos intensos, para la extracción de colorantes vegetales principalmente amarantina que se utiliza para la coloración de alimentos, dando colores sumamente vistosos y agradables a la vista y de sabor característico (9).



- ✓ La FAO (1997), señala que el almidón del amaranto posee propiedades únicas, que le presentan como una alternativa potencial en la industria de alimentos, ya que en productos enlatados podría actuar como coloide protector para reducir o prevenir la desnaturalización de proteínas (1).

d) Medicina:

- ✓ Algunos componentes menores del *A. hybridus* son los polifenoles condensados, varios estudios recientes asignan a estos compuestos determinadas propiedades beneficiosas como antioxidantes y antiarterioescleróticos (1).
- ✓ El consumo de las hojas, las semillas o productos derivados del amaranto, presenta beneficios para la salud humana, sus proteínas libres de prolaminas reactivas representan una alternativa para la alimentación de personas afectadas por la enfermedad celíaca.

e) Usos tradicionales del *A. hybridus* en el Ecuador.

- ✓ Se utiliza como medicina natural a través de una infusión de hojas y panoja, para aliviar molestias de riñones y molestias menstruales.
- ✓ Por ser astringente se utiliza para calmar la diarrea, las hemorragias y menstruaciones excesivas.
- ✓ Se utiliza en la tradicional horchata junto con otras plantas aromáticas, en la zona Sur del Ecuador (13).
- ✓ En Cañar y Azuay se hace hervir la panoja con limón y canela, se agrega azúcar y licor de caña (aguardiente) y se prepara los llamados “draques”.
- ✓ En la sierra centro-norte, se utiliza la panoja para dar color a la clásica “colada morada” en tiempo de difuntos.



Figura 8. Tradicionales “draques” de Cañar y Azuay, coloreados con agua de ataco (*A. hybridus*).

1.1.6. PRINCIPALES FORMAS DE TRANSFORMACIÓN Y USO INDUSTRIAL DEL GRANO DE AMARANTO.

El amaranto es un grano muy versátil para la transformación e industrialización, puede transformarse y utilizarse como cualquier cereal, lógicamente con mayores ventajas nutricionales, aunque por la falta de gluten en la panificación debe mezclarse a la harina de trigo para enriquecerlo y darle características panificables adecuadas (9).

Una ventaja del grano de amaranto es que no contiene sustancias amargas, lo que facilita su utilización, reduciéndose el proceso previo a la eliminación de impurezas.

La consistencia del grano es dura, por lo que para facilitar la cocción es recomendable remojarlo previamente durante 12 horas (14).

1) Grano tostado

La transformación primaria del grano de amaranto, es el **grano tostado** del cual se elabora la alegría (México), turrón (Perú, Bolivia, Ecuador), nigua (Guatemala) y consiste en la mezcla de dicho grano reventado con miel, chocolate y dándole formas de diferentes figuras geométricas o de animales.

Proceso de tostado: es un tratamiento térmico que se utiliza, no sólo para mejorar las características organolépticas del alimento sino también para aumentar su digestibilidad entre otras cosas; puesto que cuando el amaranto es sometido a dicho tratamiento, cambian sus cualidades físicas y químicas, siendo este cambio deseable, ya que



mediante el calor, la configuración de las proteínas se altera, haciéndolas más digeribles; pero a su vez hay pérdidas considerables de algunos aminoácidos, por lo que se debe tener especial cuidado cuando se somete a algún tratamiento térmico (9).

Procedimiento: experimentalmente se ha determinado que para el tostado del amaranto se debe utilizar porciones de 5 gramos, temperaturas que fluctúen de 100 a 160°C y el tiempo de tostado de 7 a 18 segundos, debiendo previamente remojar los granos en agua e iniciar el proceso de tostado una vez secos (9).

2) Harina de amaranto

La siguiente etapa de la transformación del grano de amaranto es la obtención de harina, tanto del grano crudo como tostado o precocado.

Proceso de molienda: la molienda del grano de amaranto tiene como finalidad básica la obtención de harinas.

Procedimiento: las operaciones involucradas en el proceso de obtención de la harina son las siguientes: se selecciona los granos de amaranto mediante vibración, de tal manera que se eliminen los granos inmaduros y se tenga tamaños uniformes, se efectúa una limpieza neumática para eliminar impurezas y residuos de cosecha, seguidamente se efectúa un descascarillado en forma mecánica, trituration, molienda, tamizado y mezclado.

3) Otros

También como productos del amaranto se puede obtener algunos alimentos altamente nutritivos, ya sea crudos, cocidos o precocidos tales como:

- Hojuelas.
- Concentrados proteínicos.
- Productos instantáneos (cremas instantáneas).
- Snacks (barras energéticas).



1.1.7. NUTRICIÓN Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AMARANTO

El amaranto es el producto de origen vegetal más completo, es así que en investigaciones realizadas por la Academia de Ciencias de los EEUU en 1975, se lo describió como “El mejor alimento de origen vegetal para consumo humano” (2).

El mayor atributo del amaranto, es su contenido de proteína y el perfil de aminoácidos, que define la calidad de una proteína, a lo que se añaden los contenidos de grasa, fibra, minerales (calcio, hierro y fósforo) y vitaminas (A, B1, B2, B3, C; además de ácido fólico, niacina).

En el cuadro 3, se muestra el contenido nutritivo del amaranto (*A. hybridus*), y se compara con otro pseudocereal de alto valor nutritivo como la quinua (*Chenopodium quinoa*), observándose que el grano de amaranto presenta un contenido nutritivo semejante a la quinua.

Cuadro 3. Contenido nutritivo del grano de amaranto (*A. hybridus*) y quinua (*Ch. quinoa*) (en base seca).

CARACTERÍSTICA	AMARANTO (<i>A. hybridus</i>)	QUINUA (<i>Ch. quinoa</i>)
Humedad (%)	13.7	13.7
Proteína (%)	14.3	13.9
Fibra cruda (%)	13.9	8.69
E.L.N (%) (*)	61.9	68.77
Cenizas (%)	3.58	3.7
Grasa (%)	6.18	4.95
Calcio (%)	0.30	0.08
Fósforo (%)	0.61	0.59
Hierro (ppm)	68.0	108.0
Energía (Cal/100g)	361	453.08
(*) E.L.N. : elementos libres de nitrógeno		

Fuente: INIAP, 2003. Departamento Nutrición y Calidad. En: Peralta, E., E, Villacrés, N, Mazón, M, Rivera, C. Subia, 2008. El ataco, sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus L.*) en Ecuador.



Así mismo, el contenido nutritivo del amaranto (*A. hybridus*) es superior a los cereales, incluido el trigo, tal como se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Contenido nutritivo del amaranto (*A. hybridus*) en comparación con los cereales más importantes (en base seca).

CARACTERÍSTICA	AMARANTO (<i>A. hybridus</i>) (a)	ARROZ (a)	MAÍZ (a)	TRIGO (b)
Humedad (%)	13.7	12.4	11.8	10.2
Proteína (%)	14.3	7.6	7.7	13.1
Fibra cruda (%)	13.9	2.4	2.4	3.0
E.L.N (%) (*)	61.9	84.4	83.2	70.1
Cenizas (%)	3.58	3.4	1.7	1.9
Grasa (%)	6.18	2.2	5.0	1.7

Fuente:

(a) INIAP, 2003. Departamento Nutrición y Calidad. En: Peralta, E., E, Villacrés, N, Mazón, M, Rivera, C. Subia, 2008. El ataco, sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador.

(b) ENCICLOPEDIA DE QUÍMICA; CLARK & HANLEY; Ediciones OMEGA, S.A.; Barcelona.

1.1.7.1. PROTEÍNA

Todas las especies de *Amaranthus* tienen un contenido proteico alto y su composición en aminoácidos esenciales bien balanceada (15).

Uno de los nutrientes que ha llamado la atención en el grano de amaranto es su contenido de proteína (14-18%), que en promedio, se encuentra en mayores concentraciones que en los cereales comunes, con la posible excepción de la avena descascarada.

La mayor parte de proteína en el grano de amaranto se encuentra en el germen y en la cáscara, juntos contienen el 65% de la proteína total del grano, mientras que el endospermo contiene el 35% restante de proteína. Esta distribución es muy diferente a la que se encuentra en cereales como el maíz, sorgo y arroz, en los cuales el germen proporciona entre el 12.5 a 18.5% y el endospermo entre 81.5 a 87.5% de la proteína total de los granos (16).



Esta distribución de la proteína es una de las razones que pueden explicar el mayor contenido de proteína del amaranto en comparación con los cereales comunes, ya que la fracción anatómica del germen contiene mayor concentración de la proteína. Así mismo esta distribución proteínica puede explicar el mayor contenido de lisina y mejor calidad proteínica del grano de amaranto sobre la de los cereales (16).

Además, la composición proteínica del amaranto es típica de las dicotiledóneas (2S albúminas, 11 S y 7 S globulinas). Con sólo unas cantidades muy bajas de prolaminas, que difiere de aquéllos encontrados en el trigo, por lo que este pseudocereal es conveniente para las dietas de personas que padecen la enfermedad celiaca (12).

Calidad de la proteína del amaranto:

En el amaranto dependiendo de sus variedades, el balance de aminoácidos está cercano al requerido para la nutrición humana y su aminoácido más limitante es la leucina (9).

Mientras que lo que destaca de la proteína del amaranto es su alto contenido en lisina y de aminoácidos azufrados comparado con otros cereales, lo que permite una excelente complementación aminoacídica con las proteínas del trigo, que posee sólo pequeñas cantidades de lisina, así como también con el maíz y arroz. El amaranto contiene dos veces más lisina que el trigo.

En el cuadro 5, se observa el contenido de aminoácidos en el amaranto (*A. hybridus*), comparada con la presente en otro pseudocereal de importancia como la quinua, en donde se observa que la proporción de aminoácidos esenciales del amaranto es semejante al de la quinua.



Cuadro 5. Comparación del contenido de aminoácidos (g en 100g de muestra) entre el amaranto (*A. hybridus*) y quinua (*Ch. quinoa*).

AMINOÁCIDO	AMARANTO (<i>A. hybridus</i>)	QUINUA (<i>Ch. quinoa</i>)
Ácido aspártico	1.23	1.18
Treonina	0.42	0.51
Serina	1.31	0.58
Ácido glutámico	2.15	2.14
Prolina	0.46	0.46
Glicina	1.76	1.82
Alanina	0.46	0.65
Cistina	0.05	0.08
Valina	0.61	0.64
Metionina	0.18	0.15
Isoleucina	0.46	0.52
Leucina	0.71	0.86
Tirosina	0.35	0.44
Fenilalanina	0.53	0.57
Histidina	0.37	0.39
Lisina	0.61	0.74
Arginina	1.04	0.80

Fuente: INIAP, 2003. Departamento Nutrición y Calidad. En: Peralta, E., E, Villacrés, N, Mazón, M, Rivera, C. Subia, 2008. El ataque, sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador.

La digestibilidad de las proteínas del huevo, leche y carne es cercana al 100%. Se estima que la digestibilidad de los granos andinos (quinua, cañihua y amaranto) es de aproximadamente 80% (17).

1.1.7.2. GRASA O LÍPIDOS

El contenido en grasa del grano de amaranto también es superior al de otros granos, varía entre un 7% y un 8%, si bien en la composición de estas grasas destaca la presencia de ácido oleico y ácido linoleico, que suponen alrededor del 75% de la grasa total presente en el grano y que ejercen una acción beneficiosa sobre los vasos sanguíneos y el corazón (18).

Además, el aceite de amaranto es reconocido por ser la fuente vegetal con mayor concentración de escualeno, aproximadamente un 6%. El escualeno es un triterpeno que es abundante en el aceite de tiburón y que existe en



cantidades más reducidas en los aceites de germen de trigo, arroz y aceitunas, actúa como un intermediario en el proceso de síntesis de los esteroides.

1.1.7.3. GLÚCIDOS O CARBOHIDRATOS

Las semillas de amaranto poseen bajas cantidades de monosacáridos y oligosacáridos, siendo el componente mayoritario de esta fracción el almidón, pues representa entre el 50 y 60% de su peso seco.

Las características del almidón del género *Amaranthus* son distintas a las del trigo, ya que su almidón contiene considerablemente menos amilosa que el almidón del trigo (5-7%). Así, la capacidad del almidón del género *Amaranthus* para hincharse cuando se mezcla con agua es mucho más baja que la del trigo, esto lo hace menos apropiado para la panificación (15).

1.1.7.3.1. FIBRA EN EL AMARANTO

Un aspecto excepcional del *A. hybridus* desde el punto de vista de la actividad biológica es su alto contenido en fibra, que representa hasta el 25% del grano, siendo importante determinar el contenido de fibra dietética, por su acción fisiológica en la disminución del índice de colesterol sérico o hepático (1).

1.1.7.4. MINERALES

El contenido de minerales (ceniza) en el amaranto es cerca de dos veces más alto que en otros cereales. Particularmente es alta la cantidad de calcio, magnesio, hierro, potasio y zinc (12).

Cien gramos de *A. hybridus*, puede aportar el 46% de la ingesta diaria recomendada de calcio y junto con la quinua pueden aportar el total de la ingesta diaria recomendada de hierro. Este hecho es importante en regiones donde las principales fuentes de calcio y hierro son vegetales (1).



1.1.8. ALIMENTOS FUNCIONALES (AF)

Hoy en día se encuentra una gran variedad de definiciones del término Alimentos Funcionales, generadas por diferentes organismos.

Según el ILSI (*International Life Sciences Institute*) los define como:

“Un alimento puede ser considerado como funcional cuando contiene al menos un ingrediente y/o cuya composición final ha demostrado tener un efecto positivo en una o más funciones corporales, de una forma relevante, tanto para mejorar el estado de salud y bienestar y/o reducir el riesgo de enfermedad” (19).

En otras palabras, los alimentos funcionales son aquellos que contienen componentes biológicamente activos que ejercen efectos beneficiosos en una o varias funciones del organismo y que se traducen en una mejora de la salud o en una disminución del riesgo de sufrir enfermedades (20).

Entre los compuestos químicos bioactivos cuyas propiedades saludables han sido evaluadas, se encuentran péptidos y aminoácidos, ácidos grasos, glicerol, fitoesteroles, fitoesteroles, almidones resistentes, oligosacáridos no digeribles, polisacáridos distintos al almidón, elementos de la fibra dietética soluble e insoluble y numerosos fitoquímicos, tales como polifenoles, isoflavonas, carotenoides, lignanos, terpenos, tioles, entre otros.

Productos de panificación como alimento funcional

Los productos de panificación y horneados en general representan una buena alternativa para elaborar “Alimentos Funcionales”. Por un lado, porque ellos forman parte importante de las dietas iberoamericanas en forma tradicional, por lo que su consumo no requiere de cambios en los hábitos alimentarios y, por otro, debido a que la tecnología actual permite sacar el mayor provecho de los constituyentes saludables e incorporar en los productos agentes bioactivos de variadas propiedades físicas y químicas y



diferentes efectos biológicos. Así lo más explorado en este tipo de alimentos es la incorporación de diversas fuentes de fibra dietética soluble e insoluble (19).

El Amaranto como alimento funcional

El amaranto contiene una serie de compuestos que lo hacen ser un alimento rico en compuestos bioactivos por lo que puede ser usado en la elaboración de alimentos funcionales, estos son: Fitoesteroles, Escualeno, Actividad antioxidante y Polifenoles, Fibra Dietética (21).

Así, se ha determinado que diversas especies de amaranto, como el *Amaranthus cruentus* y el *Amaranthus paniculus*, son buenas fuentes de flavonoides antioxidantes (22).

1.1.8.1. FIBRA DIETÉTICA COMO ALIMENTO FUNCIONAL

El consumo de fibra dietaria se ha asociado con propiedades de alimentos funcionales, es decir, que además de nutrir proveen condiciones que favorecen la salud intestinal, ayudan en la prevención de cáncer colonrectal, las enfermedades cardiovasculares y el mantenimiento del peso (7).

Diferencia entre fibra cruda y dietética:

- **Fibra cruda:** se consigue generalmente en las tablas de composición de los alimentos, se determina analíticamente sometiendo los productos a un tratamiento en caliente con ácido y luego con base, perdiéndose así una porción importante de polisacáridos que sí se incluyen en la fibra dietética, es decir, la fibra cruda generalmente es menor que la dietética.

Está compuesta por: Celulosa, Hemicelulosa, Lignina

- **Fibra dietética:** representa el contenido total de los polisacáridos antes indicados.

Está compuesta por: Celulosa, Hemicelulosa, Lignina (no es polisacárido, si no más bien una cadena de compuestos fenólicos), Pectinas, Gomas, Galactomananos, Tejidos animales no degradables como mucopolisacáridos.

Generalmente la determinación de fibra cruda provoca la pérdida del 70 a 80% de la hemicelulosa, de 30 a 50% de la celulosa y 90% de la lignina, se considera por tanto que es hasta 6 veces la subestimación de la fibra dietética cuando se determina fibra cruda.

1.1.8.2. COMPUESTOS FITOQUÍMICOS

FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana (28). Están ampliamente distribuidos en plantas, semillas, frutas, verduras y en diversas bebidas como vino y cerveza.

Estructura química: los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' (23)

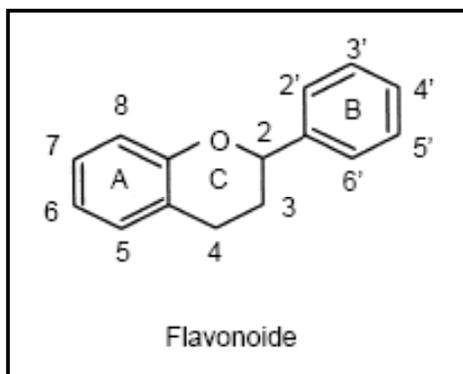


Figura 9. Estructura básica de los flavonoides (23).



Los flavonoides pueden encontrarse como aglicona (parte sin azúcares de la molécula flavonoide) o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa (24).

Clasificación: los flavonoides están divididos en 6 subclases: flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavonoides, antocianidinas, flavonoles (incluido la quercetina). Se hallan presente en todas las partes de la planta, los más comunes son las flavonas y flavonoles.

Propiedades: en un principio, fueron consideradas sustancias sin acción beneficiosa para la salud humana, pero más tarde se demostraron múltiples efectos positivos.

- ✓ A nivel de la planta se les atribuye diversas propiedades, entre ellas: protección a los vegetales contra la incidencia de rayos ultravioleta y visible, así como protección contra insectos, hongos, virus y bacterias, atrayentes de animales con finalidad de polinización, antioxidantes.
- ✓ Poseen una importancia farmacológica, resultado de algunas propiedades importantes atribuidas a algunos representantes de las diferentes clases, como por ejemplo, acción como antiinflamatorio, antialérgico, antiulcerogénico, antiviral, anticarcinogénico; así mismo, son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, de la diabetes, de las afecciones cardiacas, entre otras (24).

Dieta y flavonoides: el organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. El valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo predominantes los flavonoles especialmente la quercetina (23). Los flavonoides representan una contribución importante al potencial antioxidante de la dieta humana.



1.2. HARINA DE TRIGO

Según la NTE INEN 616:98 la definición para la harina de trigo es:

“Es el producto que se obtienen de la molienda y tamizado del endospermo del grano de trigo (*Triticum vulgare*, *Triticum durum*) hasta un grado de extracción determinado, considerando al restante como un subproducto (residuos de endospermo, germen y salvado)”.

1.2.1. Composición de la Harina de Trigo (25):

Glúcidos.....	74-76%
Prótidos.....	9-11%
Lípidos.....	1-2%
Agua.....	11-14%
Minerales.....	1-2%

GLÚCIDOS:

Almidón: es el componente principal de la harina. Es un polisacárido de glucosa, insoluble en agua fría, pero aumentando la temperatura experimenta un ligero hinchamiento de sus granos. El almidón está constituido por dos tipos de cadena:

- ✓ **Amilosa:** polímero de cadena lineal.
- ✓ **Amilopectina:** polímero de cadena ramificada.

Junto con el almidón, se encuentran unas enzimas que van a degradar un 10% del almidón hasta azúcares simples, son **la alfa y la beta amilasa**. Estas enzimas van a degradar el almidón hasta dextrina, maltosa y glucosa que servirá de alimento a las levaduras durante la fermentación.

PRÓTIDOS:

Gluten: está constituido por la gliadina y la glutenina. Es un complejo de proteínas insolubles en agua, que le confiere a la harina de trigo la cualidad de ser panificable.



- ✓ **Gliadina:** proteína responsable de la elasticidad de la masa, se puede separar del gluten fácilmente por digestión con alcohol de 70°.
- ✓ **Glutenina:** proteína encargada de la fuerza o tenacidad de la masa. Es insoluble en alcohol al 70% y se disuelve en ácidos y álcalis diluidos (26).

La calidad del gluten presente en una harina es lo que determina que la harina sea "fuerte" o "floja".

- ✓ La harina fuerte es rica en gluten (contiene mayor proporción de glutenina), tiene la capacidad de retener mucha agua, dando masas consistentes y elásticas, panes de buen aspecto, textura y volumen satisfactorios.
- ✓ La harina floja es pobre en gluten (contiene mayor proporción de gliadina), absorbe poca agua, forma masas flojas y con tendencia a fluir durante la fermentación, dando panes bajos y de textura deficiente. No son aptas para fabricar pan pero si galletas u otros productos de repostería.

LÍPIDOS: las grasas de la harina proceden de los residuos de las envolturas y de partículas del germen. El contenido de grasas depende por tanto del grado de extracción de la harina.

AGUA: la humedad de una harina, debe oscilar entre 11-14%. Las harinas húmedas con un contenido alto de humedad están expuestas al ataque de microorganismos, arácnidos e insectos.

MINERALES-CENIZAS: las cenizas están formadas principalmente por calcio, magnesio, sodio, potasio, etc., procedentes de la parte externa del grano, que se incorporan a la harina según su tasa de extracción.



1.3. HARINAS COMPUESTAS

El término “harinas compuestas” fue creado en 1964 por la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), cuando se reconoció la necesidad de buscar una solución para los países que no producen trigo.

La definición de harinas compuestas, de acuerdo con el concepto expresado en un principio por la FAO, se refiere a mezclas elaboradas para producir alimentos a base de trigo, como pan, pastas y galletas. Pero también pueden prepararse a base de otros cereales que no sea el trigo y de otras fuentes de origen vegetal.

Entre los objetivos de las harinas compuestas están: la sustitución parcial para mejorar la calidad nutricional de los alimentos y para disminuir el uso del trigo (15).

Clases de harinas compuestas:

1. Harinas compuestas conocidas como harina de trigo diluida, en la cual la harina de trigo se sustituye por otras harinas hasta en un 40% y puede contener otros componentes. La adición de una proteína suplementaria es opcional. Las condiciones generales de procesamiento y el producto final obtenido son comparables a productos preparados a base de sólo trigo.
2. Harinas compuestas que no contienen trigo, y están hechas de harinas de tubérculos y una proteína suplementaria, generalmente harina de soya, en una proporción de 4 a 1. Estos productos son diferentes en sus características reológicas al compararlos con aquellos preparados a base de sólo trigo.



1.4. GALLETAS

Son productos muy populares, elaborados de trigos duros y blandos, que contienen azúcar y grasas en su formulación, tienen variedad de sabores, larga vida útil y permiten la incorporación de alto contenido de fibra (8).

1.4.1. Definición

La definición de galletas según la NTE INEN 2085:2005 es:

“Son productos obtenidos mediante el horneado apropiado de las figuras formadas por el amasado de los derivados del trigo u otras farináceas con otros ingredientes aptos para el consumo humano”.

Galletas simples: llevan el concepto anterior, sin ningún agregado posterior.

Los panes y galletas tradicionalmente se elaboran con harina de trigo, sin embargo, es posible adicionar pequeñas cantidades de otras harinas para conseguir sabores o propiedades estructurales especiales.

En galletería existe una diversidad de extensores de harina de trigo que, adicionados en proporción adecuada a las formulaciones, pueden mejorar la calidad nutricional, abatir costos o bien disponer de una materia prima subutilizada, etc. (27)



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. MATERIA PRIMA.

Para el desarrollo de esta investigación se empleó el amaranto de grano negro “*Amaranthus hybridus*”, especie muy común en Ecuador, conocida como ataco o sangorache, cuyas semillas se recolectaron en la parroquia rural Baños de la ciudad de Cuenca y otra parte fue suministrada por el INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias), dicha institución en base a estudios le catalogó a esta especie como *A. hybridus*.

La otra materia prima empleada para la realización de esta investigación fue harina de trigo, de la marca comercial PAND`ORO que se adquirió directamente a la FÁBRICA MOPASA, en la ciudad de Cuenca.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. OBTENCIÓN DE HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO

La metodología para obtener la harina integral de amaranto tostado se describe a continuación:

2.2.1.1. OBTENCIÓN DE LAS SEMILLAS: el proceso de obtención de semillas de *A. hybridus* sigue las siguientes etapas (ver Figura 10):

- a) **Cosecha:** la cosecha del grano de amaranto (*A. hybridus*) se realiza de forma tradicional, a partir de las plantas maduras que se caracterizan por un color café-rojizo y por sus semillas duras, en este estado al sacudir la panoja, las semillas ya maduras caen. Se procede a cortar las panojas de la planta empleando una hoz y se colocan sobre una manta para evitar pérdida de semilla y para facilitar su transporte.



- b) **Secado de la panoja:** una vez recolectadas las panojas, se secan por algunos días bajo la sombra sobre una manta.
- c) **Trillado:** una vez secas las panojas, se las trilla, golpeándolas con varas para la obtención del grano.
- d) **Limpieza y venteo:** se realiza una vez desprendidas las semillas que quedan juntamente con fracciones de inflorescencias, ramas, tallos, hojas, que constituyen la broza. Se procede a separar los granos esta broza aprovechando las corrientes de aire y luego utilizando tamices o cernidores, se obtiene la semilla limpia.
- e) **Secado de la semilla:** obtenido el grano limpio, se coloca los granos extendiéndolos sobre una manta bajo la sombra, hasta que pierdan la suficiente humedad.

2.2.1.2. OBTENCIÓN DE HARINA: la obtención de la harina a partir de las semillas de *A. hybridus* sigue las siguientes etapas (ver Figura 10):

- a) **Tostado:** una vez obtenido el grano seco, se realiza el proceso de tostado, empleando un recipiente previamente calentado, usando porciones de 5 gramos de grano a una temperatura entre 100 a 160°C y por un tiempo de tostado de 18 segundos.
- b) **Molienda:** tiene por finalidad reducir el tamaño de los granos a partículas que correspondan a la de harina, se procede a la molienda del grano para la obtención de harina integral de amaranto tostado, para ello se utiliza una licuadora casera, en la que se licúa bajo intervalos de tiempo para evitar un excesivo calentamiento por el efecto mecánico.
- c) **Envasado:** tiene la finalidad de evitar el deterioro de la harina, una vez obtenida la harina se envasa en un recipiente de boca ancha, de cierre hermético y cubierto con papel aluminio.
- d) **Almacenamiento:** se coloca la harina en un lugar seco, protegido de la luz, humedad y contaminación.

Figura 10. Flujoograma de obtención del grano de amaranto (*A. hybridus*) y obtención de la harina integral de amaranto tostado.



Fuente: las Autoras



2.2.2. DISEÑO DE FORMULACIÓN DE LAS HARINAS COMPUESTAS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS “GALLETAS DE AMARANTO”

Se diseñaron 4 tipos de harinas compuestas en base a la mezcla de harina de trigo y harina integral de amaranto tostado, que son empleadas para la elaboración de “Galletas de amaranto” y además se trabajó con una galleta testigo (100% harina de trigo).

Para ello se establecieron distintos porcentajes de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, con niveles de sustitución de 0, 20, 25, 30 y 35%, a partir de las cuales se obtuvieron 5 tipos de galletas que se designan como Galleta 1, Galleta 2, Galleta 3, Galleta 4 y Galleta 5, respectivamente (ver Cuadro 6).

El porcentaje mínimo de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado empleado para la elaboración de las galletas fue del 20%, con la finalidad de obtener un incremento significativo del aporte nutricional, objetivo de esta investigación y el porcentaje máximo de sustitución empleado fue de 35%, debido que el amaranto no posee gluten por lo que es muy difícil su estabilidad al momento de la elaboración de las galletas.

Cuadro 6. Porcentajes de sustitución de la harina de trigo por harina integral de amaranto tostado.

GALLETAS	HARINA DE TRIGO	HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO
1	100%	TESTIGO
2	80%	20%
3	75%	25%
4	70%	30%
5	65%	35%

2.2.3. GALLETAS

2.2.3.1. FORMULACIÓN DE LAS GALLETAS DE AMARANTO: la formulación empleada para la elaboración de galletas simples en base a la sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado se



observa en el siguiente cuadro, la cual se obtuvo de acuerdo a una receta de panadería.

Cuadro 7. Formulación de las “Galletas de amaranto”.

FORMULACIÓN DE LAS “GALLETAS DE AMARANTO”					
Ingredientes	GALLETA 1	GALLETA 2	GALLETA 3	GALLETA 4	GALLETA 5
Harina de trigo	375g	300g	281,25g	262,5g	243,75g
Harina integral de amaranto tostado	0g	75g	93,75g	112,5g	131,255g
Mantequilla	187,5g	187,5g	187,5g	187,5g	187,5g
Azúcar impalpable	187,5g	187,5g	187,5g	187,5g	187,5g
Huevos	128g	128g	128g	128g	128g
Royal	5g	5g	5g	5g	5g
Esencia de vainilla	1 ml				
Colorante de ataco	4 ml				
Número de unidades por cada lote de galleta: 50					

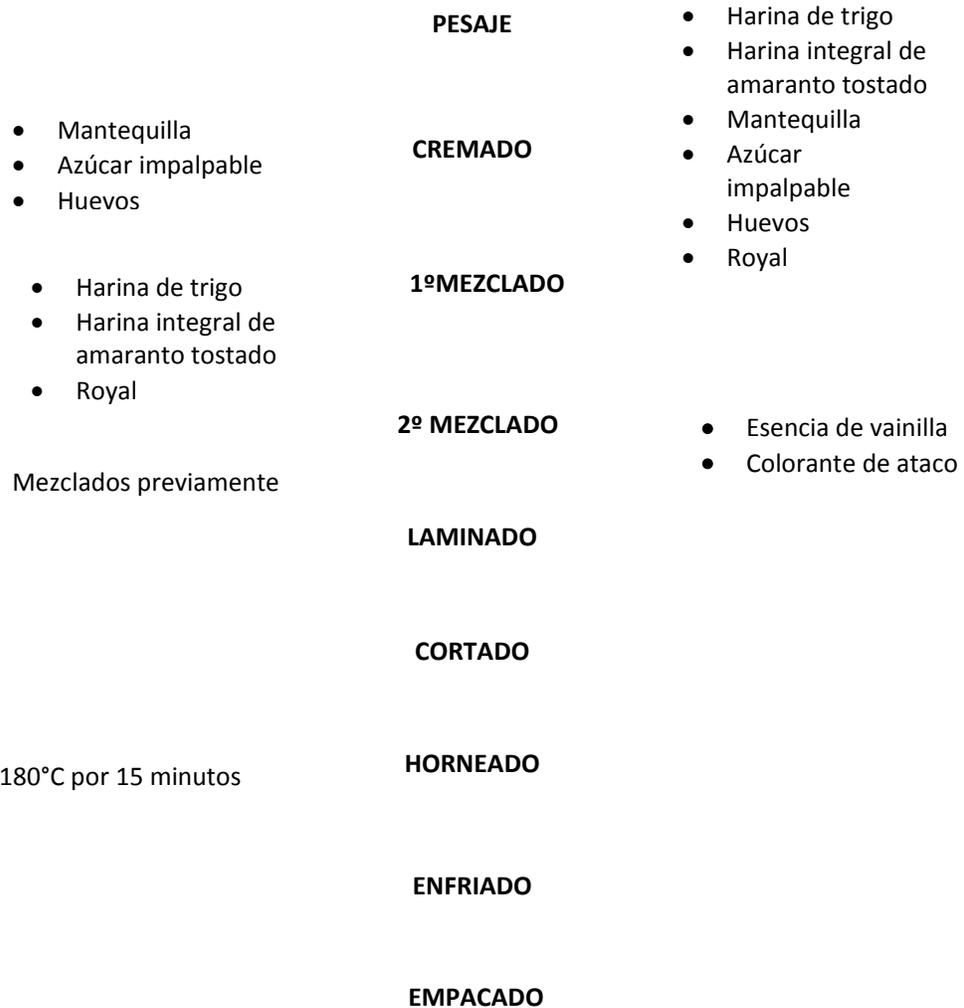
Como se puede observar las cantidades de harina de trigo y harina integral de amaranto tostado van variando conforme aumenta el porcentaje de sustitución, mientras que el resto de ingredientes que intervienen en la formulación de las galletas presentan cantidades constantes.

2.2.3.2. ELABORACIÓN DE LAS GALLETAS DE AMARANTO.

La elaboración de las Galletas de amaranto se realiza tal como se describe en el siguiente flujograma (ver Figura 11).



Figura 11. Flujograma de elaboración de “Galletas de amaranto”.



Fuente: las Autoras

2.2.3.3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LAS “GALLETAS DE AMARANTO”.

PESAJE Y MEDICION: se hace de acuerdo con las cantidades establecidas en la formulación para cada galleta, este pesaje se debe realizar lo más preciso posible.



Figura 12. Ingredientes empleados en la elaboración de las “Galletas de amaranto”.

CREMADO: los ingredientes (azúcar impalpable) son mezclados con la grasa (mantequilla) a fin de obtener una crema sin grumos, y posteriormente se colocan uno a uno los huevos y en cada adición, se mezcla muy bien, para obtener una crema uniforme.



Figura 13. Cremado del azúcar y mantequilla.

1º MEZCLADO: se agrega la harina de trigo, la harina integral de amaranto tostado (de acuerdo al porcentaje de sustitución) y el polvo de hornear los cuales se mezclan previamente y se mezcla con las yemas de los huevos.



Figura 14. Harina compuesta por harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

2º MEZCLADO: se coloca el colorante (colorante concentrado de las panojas de *A. hybridus*), saborizante (esencia de vainilla) y se mezcla, obteniendo una masa apta para laminarse y traquelarse.

El colorante se prepara haciendo hervir en una olla varias panojas de *A. hybridus* en una cantidad reducida de agua.



Figura 15. Masa de galletas de amaranto.



Figura 16. Colorante concentrado de panojas de *A. hybridus*

LAMINADO: para obtener galletas con la mayor uniformidad posible se forma una capa de masa, extendiendo la masa sobre una mesa o en otra superficie muy pareja, hasta obtener un espesor uniforme y una superficie lo más lisa posible.



Figura 17. Masa laminada de galletas.

CORTADO: se troquea la masa laminada con un cortador de galletas circular y se coloca las piezas formadas en charolas (previamente engrasadas).



Figura 18. Figuras de galletas de amaranto.

HORNEADO: se introduce dichas piezas en el horno precalentado a una temperatura entre 175 a 180°C y se hornea por 15 minutos. Hay que tener en cuenta que la temperatura y el tiempo de horneado controlan el color, la textura, el sabor, la humedad y la calidad del producto. Cuando la temperatura es muy alta, la corteza de la galleta se quema, mientras que la miga queda cruda. Sin embargo, cuando es muy baja, la miga se seca demasiado, mientras que la corteza no toma color.



Figura 19. Horneado de galletas de amaranto.

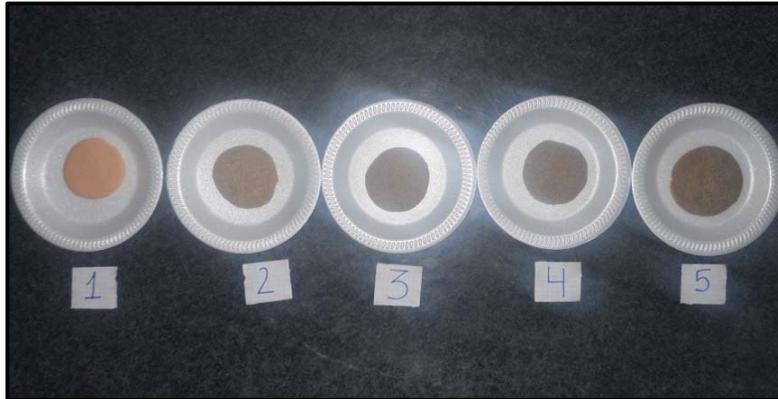
ENFRIADO: se enfria las galletas antes de empacarlas en envoltorios impermeables, ya que al empacarlas calientes, el vapor se condensa en el interior de las bolsas, humedece las galletas e induce el crecimiento de mohos.

EMPAQUETADO: el empaque impide la contaminación con suciedad, insectos, etc. El empaque empleado debe ser impermeable, resistente a la grasa y de preferencia opaco. El empaque de las galletas preparadas se hace en bolsas con cierre hermético y se almacenan en un lugar seco, fresco y aislado de la luz solar, disminuyendo el riesgo de rancidez.



Figura 20. Empaquetado de galletas de amaranto.

En la Figura 21, se muestran las galletas elaboradas a partir de la harina compuesta formada por harina de trigo y harina integral de amaranto tostado, en base a distintos niveles de sustitución y se incluye la galleta testigo.



Interpretación:

Galleta 1= 100% HT (testigo).

Galleta 2= 80% HT + 20 HA.

Galleta 3= 75% HT + 25 HA.

Galleta 4= 70% HT + 30 HA.

Galleta 5= 65% HT + 35 HA.

HT Harina de trigo

HA Harina integral de
amaranto tostado.

Figura 21. “Galletas de amaranto”.



2.3. ANÁLISIS DE LA HARINA DE TRIGO, HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y GALLETAS.

Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios de la Universidad de Cuenca:

ANÁLISIS	LABORATORIO
Análisis fisicoquímicos y bromatológicos	Laboratorio de Análisis Bromatológico y de Suelos
Análisis microbiológico y sensorial	Laboratorio de Microbiología de Alimentos
Análisis fitoquímico	Laboratorio de Análisis fitoquímico del Proyecto VLIR y de Farmacognosia

A las materias primas (harina de trigo y harina integral de amaranto tostado) y a los diferentes tipos de galletas se les valoraron sus propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y bromatológicas según los métodos oficiales de la Normas INEN (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización). Tomando como referencia los requisitos de las Normas INEN 616:98 para harina de trigo (ver Anexo 1) que es aplicada para la harina de trigo y harina integral de amaranto tostado e INEN 2085:2005 para galletas (ver Anexo 2), que es aplicada a los cinco lotes de galletas.

Adicionalmente, a la harina integral de amaranto se le efectuó un análisis fitoquímico y a las galletas elaboradas se les sometieron a un análisis sensorial.

MUESTREO:

Obtención de la muestra:

- a) **Harina integral de amaranto tostado:** la harina integral de amaranto tostado obtenida a partir de la molienda del grano de amaranto (*A. hybridus*) y que se encuentra acondicionada en un envase hermético,



se le considera como un lote de producto, a partir del cual se realizan las distintas determinaciones.

- b) **Harina de trigo:** a partir de un quintal de harina de trigo de la marca comercial PAND`ORO que se adquirió directamente a la FÁBRICA MOPASA, se obtuvo la muestra para análisis por medio de cortes en distintas zonas del saco y tomando una porción de cada una de ellas, que se recogen en un recipiente hermético, a partir de la cual se realizan los análisis respectivos.
- c) **Galletas:** a las galletas que se encuentran acondicionadas en bolsas de cierre hermético, se les considera como un lote de producto para sus respectivos análisis, obteniéndose 5 lotes con las denominaciones: Galleta 1, Galleta 2, Galleta 3, Galleta 4 y Galleta 5.

Preparación de la muestra:

- a) **Harina integral de amaranto tostado y harina de trigo:** para obtener las muestras para cada uno de los ensayos, se homogeniza el recipiente que las contiene, invirtiendo el envase varias veces, luego con la espátula se toma una porción para cada análisis.
- b) **Galletas:** se toma de forma aleatoria dos unidades de galletas de cada lote, se trituran en un mortero y se homogenizan con la espátula y a partir de ésta se toma la cantidad requerida para cada análisis.

2.3.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Estos análisis fueron realizados en la harina de trigo, en la harina integral de amaranto tostado, así como para cada lote de galletas. En la harina de trigo y en la harina integral de amaranto tostado se realizó la cuantificación de microorganismos aerobios mesófilos, coliformes, *Escherichia coli*, mohos y levaduras y detección de *Salmonella*, de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 616:98, según los requisitos microbiológicos para harina de trigo (ver



Anexo 1), mientras que para las galletas, se cuantificaron microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras, de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 2085:2005, según los requisitos microbiológicos para galletas simples (ver Anexo 2).

Los microorganismos aerobios mesófilos, coliformes, *Escherichia coli*, mohos y levaduras, se cuantificaron empleando la técnica Petrifilm, mientras que para la detección de *Salmonellas* se empleó el Test REVEAL® para *Salmonella* (prueba inmunocromatográfica).

2.3.1.1. RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS, *E. COLI*/COLIFORMES Y MOHOS Y LEVADURAS EMPLEANDO PLACAS PETRIFILM.

De manera inicial se realizó la preparación de las diluciones de la muestra, pesando 25g de cada muestra a analizar y colocando en un frasco homogeneizador conteniendo 225 ml de agua de peptona al 0,1%, para luego mezclar en una licuadora a medianas revoluciones por 2 minutos, constituyendo una dilución de 1×10^{-1} . A partir de esta dilución se preparan el número respectivo de diluciones para la harina de trigo, la harina integral de amaranto tostado y para las cinco galletas, para su respectiva siembra en los medios de aerobios mesófilos, *Escherichia coli* / coliformes, mohos y levaduras, utilizando placas Petrifilm®, sembrando 1ml de las diferentes diluciones en el centro del círculo. Posteriormente se distribuyó el inóculo usando una lámina plástica difusora y se incubó en posición horizontal durante 24-48h a 35°C para aerobios mesófilos, *E. coli*/coliformes y durante 3-5 días a 22°C para los mohos y levaduras (ver Anexo 3).

Los resultados de los recuentos para aerobios mesófilos, *E. coli*/coliformes fueron expresados en unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g), y para los mohos y levaduras en unidades propagadoras de colonia por gramo de muestra (UPC/g) (ver Anexo 3).

2.3.1.1.1. Recuento de Aerobios mesófilos

Con este recuento se estima la microflora total presente en el alimento sin especificar tipos de microorganismos. Este indicador refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (28).

El recuento de aerobios se realiza mediante el empleo de placas Petrifilm para recuento de aerobios (Aerobic Count AC), éste es un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias (29).

Identificación: colonias de color rojo de cualquier tamaño son indicativas de aerobios.

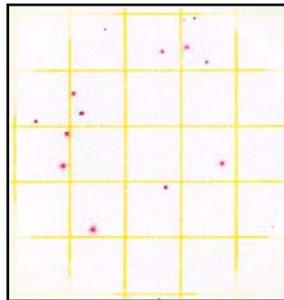


Figura 22. Placa Petrifilm^{MR} AC con crecimiento de bacterias aerobias.

2.3.1.1.2. Recuento de *E. coli* /coliformes

Las bacterias ***E. coli*** y **coliformes** (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*) son particularmente útiles para indicar contaminación post-proceso térmico, ya que estos microorganismos se eliminan fácilmente al ser sometidas a un tratamiento térmico, por consiguiente, su presencia en un alimento sometido a temperaturas elevadas significa un proceso deficiente o, lo que es más común, una contaminación posterior al proceso.

El recuento de coliformes totales y *E. coli* se realiza empleando placas Petrifilm para recuento de *E. coli*/coliformes (placa Petrifilm EC), que contienen nutrientes de Bilis Rojo violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucoronidasa y un indicador que facilita la enumeración de colonias (30).

La mayoría de las *E. coli* produce beta-glucoronidasa cuando crecen en las placas Petrifilm EC, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con las colonias, mientras que las bacterias coliformes producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH, que vira a un color rojo.

Tanto *E. coli* como coliformes producen gas por fermentación de lactosa, que es atrapado por la película superior de la placa petrifilm.

Identificación: colonias de color rojo con presencia de gas son indicativas de coliformes totales, mientras que colonias de color azul con presencia de gas son indicativas de la presencia de *E. coli*.

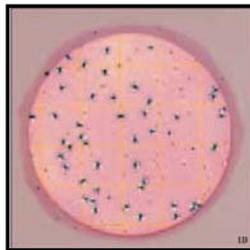


Figura 23. Placa Petrifilm^{MR} EC con crecimiento de *E. coli* y coliformes totales.

2.3.1.1.3. Recuento de mohos y levaduras

Es un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como de uso de materia prima inadecuada.

El recuento de mohos y levaduras se realiza utilizando placas Petrifilm para recuento de Mohos y Levaduras (Yeast & Molds, YM) que contiene

nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias (31).

Además, este medio está suplementado con antibióticos (clorotetraciclina y cloramfenicol) como medio de crecimiento.

Identificación: colonias de color negro son indicativas de la presencia de mohos, mientras que colonias de color azul-verdosas son indicativas de la presencia de levaduras.

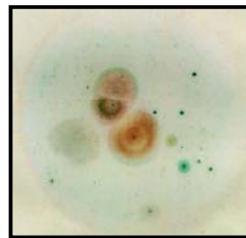


Figura 24. Placa Petrifilm^{MR} YM con crecimiento mohos y levaduras.

2.3.1.2. DETECCIÓN DE SALMONELLA

Todas las especies de *Salmonella* se consideran patógenas para el hombre y su única vía de entrada al organismo es la oral, por lo que es importante detectar su presencia en el agua y los alimentos.

El procedimiento empleado para la detección de *Salmonella* spp., consiste en las siguientes etapas:

- a) **Enriquecimiento no selectivo:** tiene como finalidad la revitalización de los microorganismos dañados por los diferentes procesos industriales, de almacenamiento o transporte. Siendo el agua de peptona, el medio de enriquecimiento no selectivo de elección.
- b) **Enriquecimiento selectivo:** tiene como finalidad favorecer el crecimiento de las *salmonellas* en un medio con bacterias competitivas. Entre los medios de enriquecimiento selectivos empleados está el caldo de selenito-cistina (SC) y el caldo de Tetracionato (TB).



- c) **Prueba inmunocromatográfica:** a partir del caldo de enriquecimiento selectivo se detecta la presencia de *Salmonella* inoculando la muestra en el dispositivo del Test REVEAL® para *Salmonella*, que consiste en una prueba inmunocromatográfica, que contiene anticuerpos con alta especificidad para antígenos de salmonella.

La aparición de una línea visible en la zona T del dispositivo de la prueba indica una reacción positiva. Teniendo en cuenta que la presencia de una línea de control en la zona C verifica la validez de la prueba y su ausencia invalida la prueba.

Para la detección de *Salmonella* en la harina integral de amaranto tostado y en la harina de trigo se partió de la primera dilución de las muestras en agua de peptona (dilución 1×10^{-1}), la cual se incubó a 35-37°C por 24 horas. Para luego proceder a tomar 1 ml y colocarlo en un tubo con 10 ml de caldo de tetrionato y 1 ml a un tubo con 10 ml de caldo selenito–cistina, e incubarlos en baño de agua a 43°C por 18-24 horas.

Una vez obtenido los caldos de enriquecimiento selectivo, se colocaron unas gotas sobre el área circular del dispositivo del test REVEAL® para *Salmonella* y se espera 15 minutos para leer los resultados y proceder a la interpretación de los mismos (ver Anexo 4).

2.3.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS Y BROMATOLÓGICOS.

Estos análisis fueron realizados para la harina de trigo, la harina integral de amaranto tostado y las galletas, realizándose por replicado de acuerdo a las siguientes técnicas: Humedad (INEN 518), Acidez en harinas (INEN 521), pH en las galletas (INEN 526), Cenizas (INEN 520), Proteínas (INEN 519), Fibra cruda (metodología descrita por LEES, R), Lípidos totales (INEN 523), Carbohidratos (por diferencia), Calcio (Espectrofotometría de absorción atómica), Fósforo y Hierro (espectrofotometría).

2.3.2.1. HUMEDAD: la humedad es un parámetro crítico que condiciona las características nutritivas, sensoriales y de estabilidad de un alimento.

Se determina aplicando un método indirecto por medio de desecación, que se basa en la pérdida de peso de la muestra al someterla al calentamiento en estufa (Figura 25) bajo condiciones determinadas, para ello se pesa la muestra, a continuación se volatiliza el agua calentando y se vuelve a pesar la muestra seca (Figura 26). La cantidad de agua se determina por diferencia de pesada (gravimetría).

La humedad de las muestras se realizó de acuerdo al método descrito en la NTE INEN 518 (Ver Anexo 5).



Figura 25. Estufa para determinación de humedad



Figura 26. Balanza analítica.

2.3.2.2. ACIDEZ TITULABLE: la determinación de la acidez puede proporcionar un dato valioso, cuando se determina el estado de conservación de un producto alimenticio.

La acidez se mide por titulación con un álcali hasta un punto final que depende del indicador seleccionado y el resultado se expresa en términos de un ácido dado.

Su determinación en las muestras de harina se realizó de acuerdo al método descrito en la NTE INEN 521, por titulación de un extracto alcohólico con un

álcali y el resultado se expresó como % de masa de ácido sulfúrico (Ver Anexo 6).



Figura 27. Titulación de la acidez en harina integral de amaranto tostado.

2.3.2.3 pH: es de gran importancia en la conservación y almacenamiento de alimentos por su efecto inhibitor del desarrollo de microorganismos y enzimas, además afecta a diversas propiedades físicas de algunos alimentos.

Su determinación se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro) (Figura 28).

La determinación del pH en las galletas se efectuó de acuerdo al método descrito en la NTE INEN 526 (Ver Anexo 7).



Figura 28. Potenciómetro empleado para la determinación de pH.



2.3.2.4. PROTEÍNA: se determinó mediante la NTE INEN 519 (ver Anexo 8), aplicando el método Kjeldahl, que determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas y mediante un factor de transformación calcula el tanto por ciento de proteína en el alimento.

Este método consta de tres etapas:

- 1. Destrucción de la materia orgánica:** se hace una digestión con H_2SO_4 , en presencia de catalizadores metálicos y de otro tipo. Todo el nitrógeno orgánico se transforma en sulfato de amonio.



- 2. Destilación del amoníaco:** sobre el sulfato de amonio formado en la primera etapa, se añade NaOH en exceso y se desprende NH_3 , que es arrastrado por una corriente de vapor de agua y se recogen en un recipiente colector para su valoración (Figura 29).



- 3. Valoración de amoniaco:** se recoge el NH_3 destilado sobre H_2SO_4 medido y en exceso. El exceso se valora con NaOH.



A partir del H_2SO_4 consumido en la valoración, se determina la cantidad de nitrógeno (%) y multiplicando por el factor de transformación se determina el tanto por ciento de proteína (%N.F=% Proteína).

El factor de conversión de nitrógeno utilizado para obtener el contenido de proteínas total en la harina de trigo fue de 5,7, para la harina integral de amaranto tostado fue de 6,25 y para las galletas se aplicó un factor idóneo que se obtuvo por combinación de los factores 5,7 y 6,25 de acuerdo al porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado (ver Anexo 17: datos Proteínas).



Figura 29. Equipo Kjeldahl empleado para determinar el contenido de proteína.

2.3.2.5. GRASA: El contenido de “grasa”, se determina empleando el método Soxhlet (Figura 30), que consiste en la extracción de la fracción lipídica del material seco y molido de la muestra con disolventes orgánicos apolares, posteriormente el disolvente se evapora y se determina la cantidad de lípidos por gravimetría. El resultado se expresa en tanto por ciento de grasa (peso/peso), es decir, gramos de grasa en 100g de alimento.

El contenido de grasa en las muestras se realizó de acuerdo al método descrito en la NTE INEN 523 (ver Anexo 9).



Figura 30. Equipo Soxhlet empleado para determinar el contenido de grasa.

2.3.2.6. FIBRA CRUDA: la “fibra cruda” es el residuo orgánico insoluble y comestible que queda después de tratar la muestra en las condiciones descritas a continuación. Se digiere la muestra sin grasa con una solución de ácido sulfúrico, se lava y nuevamente se digiere con una solución de NaOH, se lava, seca y pesa. Este tratamiento empírico proporciona una fibra cruda que consiste principalmente en celulosa y cierta proporción de lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra original (32).

La fibra cruda se hizo utilizando la digestión ácida y alcalina, siguiendo la metodología descrita por LEES, R, pero utilizando los reactivos (H_2SO_4 0,255N e NaOH 0,313N) descritos en la NTE INEN 522 (Ver Anexo 10).



Figura 31. Equipo empleado para determinar el contenido de fibra cruda.

2.3.2.7. HIDRATOS DE CARBONO: la determinación de hidratos de carbono es muy complicada, porque es un grupo muy heterogéneo de compuestos sin ninguna propiedad diferencial con los otros grupos que permita su análisis (32).

Por ello pueden determinarse indirectamente por la diferencia entre 100 y la suma de los porcentajes de los demás componentes principales (humedad, grasa, fibra, proteínas, cenizas), pero esto nunca es exacto por lo que suele llamarse extractivos no nitrogenados, ya que incluyen otros componentes como taninos, pigmentos, pectinas (5).

El contenido de carbohidratos fue calculado por diferencia, utilizando la ecuación:

$$\text{Carbohidratos} = 100 - (\% \text{ de grasa} + \% \text{ proteína} + \% \text{ humedad} + \% \text{ cenizas} + \% \text{ fibra cruda}).$$

2.3.2.8. CENIZAS: la ceniza de un producto alimentario es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica, se determina por medio de la incineración de las muestras, las cuales se colocan en una mufla, hasta obtener residuos grises o blancos y peso constante.

El contenido de cenizas en las muestras se determina de acuerdo al método descrito en la NTE INEN 520 (ver Anexo 11).

2.3.2.9. CALCIO

La determinación de calcio en las muestras se realiza por espectrofotometría de absorción atómica (ver Anexo 12).

La espectrofotometría de llama o de absorción atómica se basa en la absorción de luz que se produce cuando los iones de una solución se vaporizan en una llama, por transición de los átomos neutros en reposo a un estado excitado.



Figura 32. Espectrofotómetro de absorción atómica para la determinación de calcio.

2.3.2.10. HIERRO

La determinación del hierro se realiza usando la ortofenantrolina que reacciona con el Fe^{2+} , originando un complejo de color rojo característico (ferroína) que absorbe notablemente en las regiones del espectro visible de alrededor de 505 nm (ver Anexo 13).

Debido a que el Fe^{3+} no presenta absorción a esa longitud de onda, debe ser reducido a Fe^{2+} mediante un agente reductor apropiado como la hidroxilamina. La reducción cuantitativa de Fe^{3+} a Fe^{2+} ocurre en pocos minutos en un medio ácido (pH 3-4) de acuerdo a la siguiente ecuación:



Después de la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} , se da la formación de un complejo con la adición de ortofenantrolina. En un medio ácido la ortofenantrolina se encuentra en su forma protonada como ión 1,10-fenantrolin (FenH^+) (33).

La reacción de complejación puede ser descrita por la siguiente ecuación:



Figura 33. Espectrofotómetro empleado para la determinación de hierro y fósforo.



2.3.2.11. FÓSFORO

La determinación de fósforo total incluye dos pasos principales, el primero consiste en la conversión a ortofosfato disuelto de todas las diferentes formas de fósforo presentes. El segundo paso consiste en la detección de ortofosfato en solución por un método cuantitativo.

El ortofosfato reacciona con molibdato de amonio bajo condiciones ácidas para formar el ácido molibdofosfórico, que en presencia de vanadio genera el ácido vanadomolibdofosfórico de color amarillo, la intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de fósforo en la muestra y es medida por un método colorimétrico a una longitud de onda entre 400 nm y 470 nm (ver Anexo 14).

2.3.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

2.3.3.1. DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

La determinación de sustancias solubles se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, etanol o una mezcla hidroalcohólica mediante maceración y luego evaporación hasta sequedad de una alícuota del macerado. Esto ayuda a valorar el vehículo más apropiado a la hora de formular la droga cruda en un fitoterápico (34).

Para la extracción de sustancias solubles de la harina integral de amaranto se empleó un peso de 5g de muestra y se emplearon como disolventes agua, metanol al 85%, etanol al 80%, etanol al 94%, acetato de etilo y éter de petróleo, siguiendo la metodología descrita en el texto de Prácticas de Farmacognosia, Práctica #11 (ver Anexo 15).

Nota: para la realización de esta prueba de solubilidad se trabajó con harina integral de amaranto sin tostar cuyo valor de humedad se muestra en el Anexo 15.



2.3.3.2. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS E IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

2.3.3.2.1. MUESTRAS

Se realizó la evaluación fitoquímica de las semillas enteras, de la harina integral sin tostar y de las inflorescencias de la especie *Amaranthus hybridus*.

La recolección de las inflorescencias de *A. hybridus* se hizo en el estado fresco de la planta y se procedió a su secado bajo la sombra durante 20 días, una vez el material seco se lo pulverizó empleando una licuadora y se envasó en un frasco de vidrio forrado con papel aluminio.

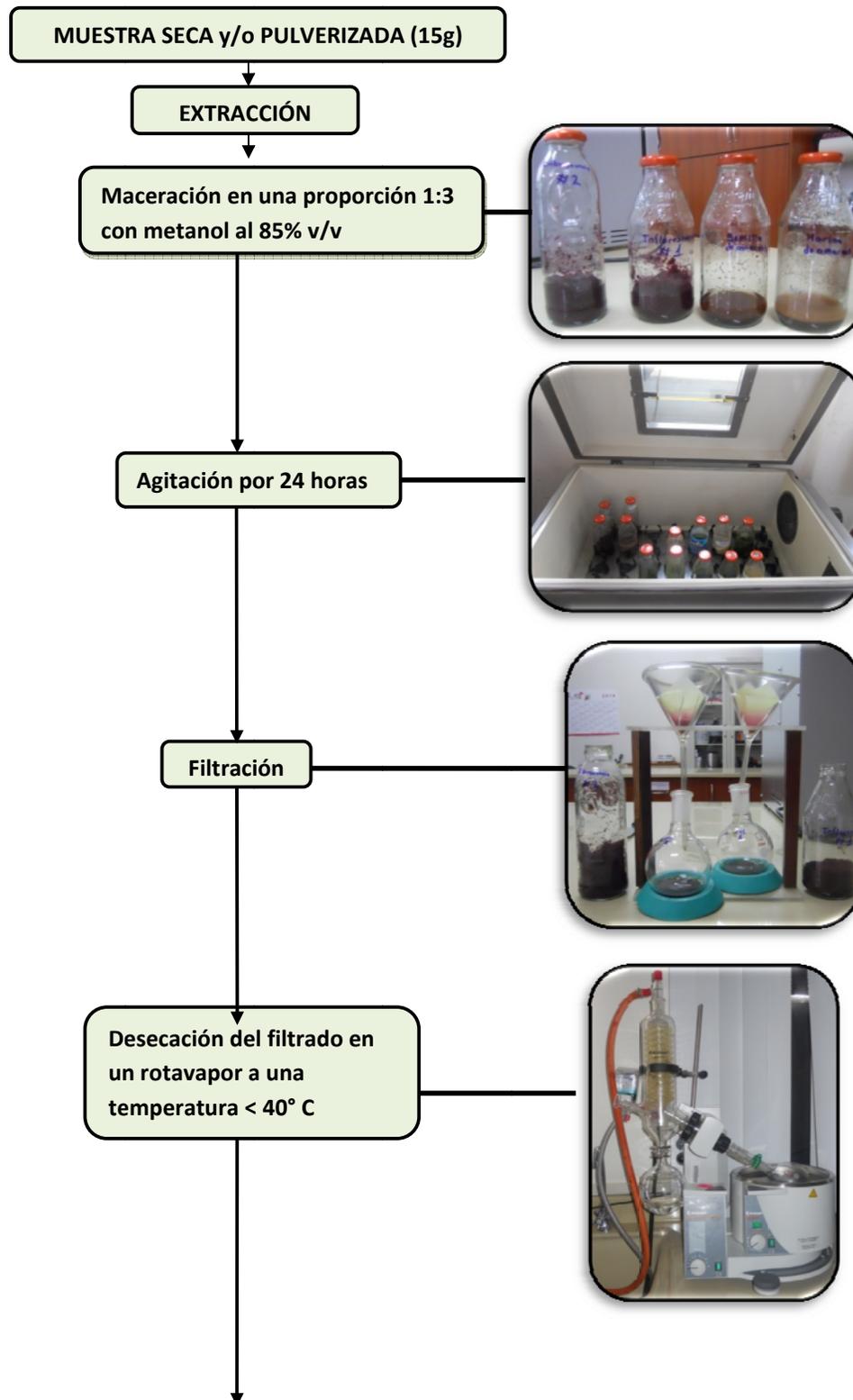
2.3.3.2.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

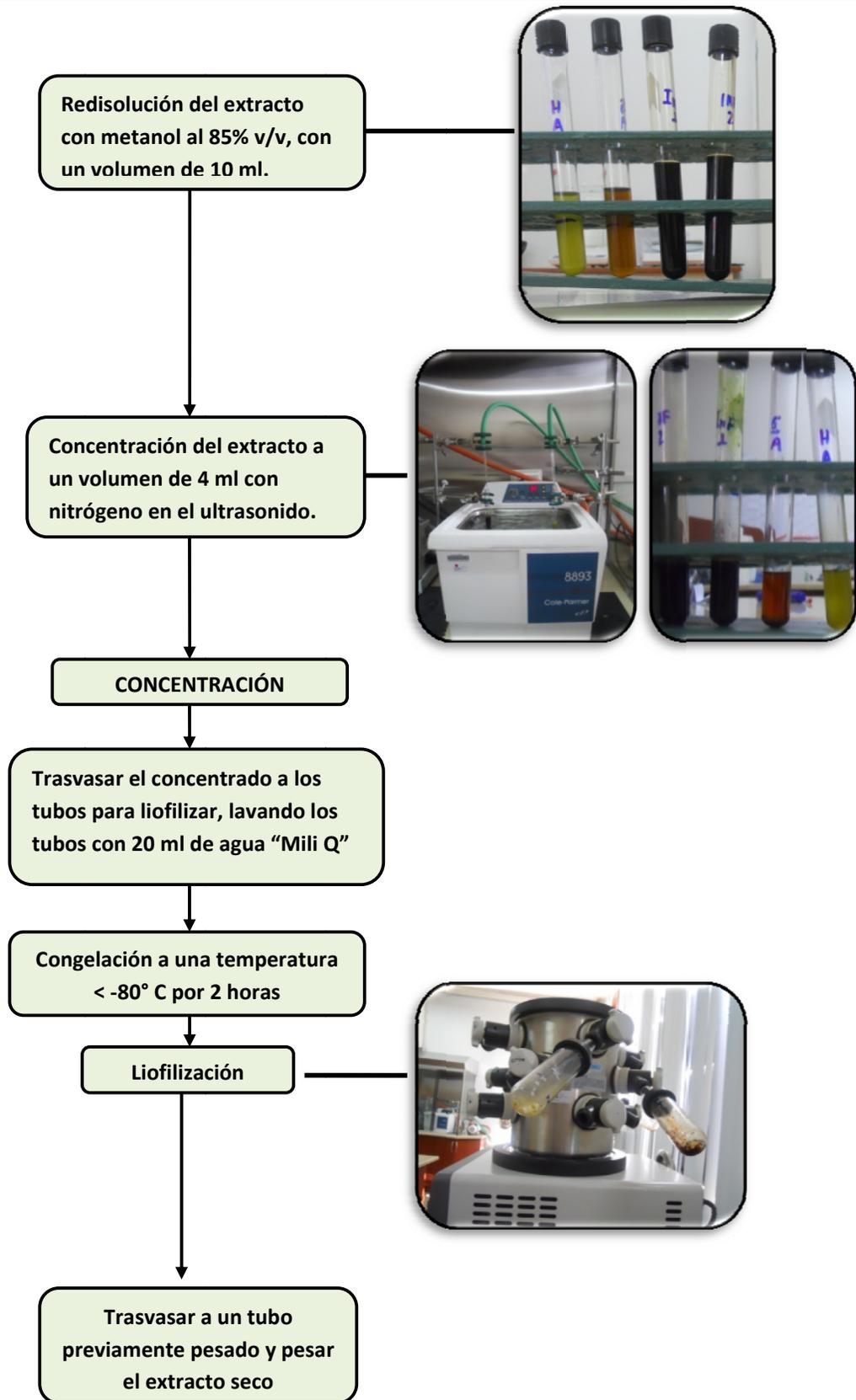
Para la extracción de los principios activos de las muestras se empleó la maceración, la cual consiste en poner en contacto la droga seca triturada con el disolvente utilizado para la extracción a temperatura ambiente, manteniéndolo todo en agitación durante un tiempo determinado (por lo menos 3 días).

Para la maceración se partió de 15g de las muestras (semillas enteras, harina e inflorescencias pulverizadas de la planta *A. hybridus*), empleando como disolvente metanol al 85% v/v, en una proporción 1:3, respectivamente (a excepción de las inflorescencias en las que se empleó un volumen de 100 ml de metanol) y agitando por 24 horas.

Una vez obtenido el extracto fluido, se procedió a realizar una serie de pasos hasta obtener el extracto seco de cada una de las muestras (ver Figura 34).

Figura 34. Flujo de trabajo para la obtención de los extractos secos de la semilla, harina integral e inflorescencias de *A. hybridus*.







2.3.3.2.3. ANÁLISIS CUALITATIVO

a) Ensayo del cloruro férrico para compuestos fenólicos

Se disuelve 2.5 mg del extracto seco con 1 ml de metanol al 85% en un tubo de ensayo y se añade 1 gota de FeCl_3 al 1% acuoso o alcohólico. Se mezcla.

Interpretación: la aparición de coloraciones violetas, verdes, azules u oscuras se considera prueba positiva para la presencia de compuestos fenólicos.

b) Ensayo de Shinoda para flavonoides (mediante la variación de la reacción de Shinoda)

Se disuelve 2.5 mg del extracto seco con 1 ml de metanol al 85% en un tubo de ensayo, se agrega 2 a 3 virutas de Magnesio y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, se espera 5 minutos. Se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Interpretación: el ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico presenta las siguientes coloraciones:

Cuadro 8. Coloraciones según el tipo de Flavonoide en la reacción de Shinoda.

Tipo de flavonoide	Coloración
Flavonas	Amarillo a rojo
Flavonoles	Rojo a magenta
Flavononas	Rojo, magenta, violeta, azul
Isoflavonas	Amarillo

c) Identificación del Flavonoide Quercetina por Cromatografía en capa fina

Para evaluar la presencia o ausencia del flavonoide Quercetina en los extractos obtenidos de las muestras de semilla, harina integral e inflorescencias de *A. hybridus*, se empleó la cromatografía en capa fina, utilizando un estándar de Quercetina (ver Figura 35).



Figura 35. Flujograma de trabajo para la identificación del Flavonoide Quercetina por Cromatografía en capa fina.

**ANÁLISIS CUALITATIVO:
IDENTIFICACIÓN DEL FLAVONOIDE
QUERCETINA POR
CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

PESAR

1, 5 y 10 mg de extracto seco (harina, semilla) y 1 mg de extracto seco (inflorescencias de *A. hybridus*). 1 mg de patrón de quercetina

Redisolver con 1 ml de metanol al 85% en el ultrasonido

Sembrar en una cromatoplaaca de silica gel 60F254 1 gota del estándar de quercetina disuelto en metanol y 1 gota de los extractos metanólicos de las muestras, a 1 cm del borde inferior.

Dejar secar y luego colocar en la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil

Dejar correr la fase móvil hasta 1 cm del borde superior

Retirar la placa cromatográfica y secar al aire por 30 minutos

Rociar con cloruro de aluminio al 1% en etanol y secar

Analizar la cromatoplaaca con una lámpara UV a 365 nm y medir los Rf de las bandas.



Para la aplicación de la Cromatografía en capa fina se emplearon:

- Muestras: extractos metanólicos de la semilla, harina e inflorescencias de *A. hybridus*.
- Disolución del estándar de Quercetina: se prepara a partir de un estándar puro de Quercetina (1mg), disolviéndolo en 1 ml de metanol al 85%.
- Fase estacionaria: cromatofolios de aluminio con sílica gel 60F254 (Merck) de 10 cm x 9 cm.
- Fase móvil: mezcla de acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua: tolueno (100:11:11:26:20).
- Revelador: Cloruro de aluminio al 1% en solución etanólica.

Luego del desarrollo del desarrollo de la placa se determina el valor de Rf de cada banda visible, aplicando la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

NOTA: se realizaron 2 cromatoplasmas en capa fina: en la primera cromatoplasma se sembró el estándar de Quercetina seguido de los extractos de harina e inflorescencia 1 de la especie *A. hybridus* y en la segunda se sembró el estándar de Quercetina seguido de los extractos de semilla e inflorescencia 2 de *A. hybridus*.

2.3.3.2.4. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES.

Se realizó la cuantificación del contenido total de flavonoides expresados como quercetina por espectrofotometría UV-V, empleando una curva de calibración de Quercetina, en la harina integral e inflorescencias de *A. hybridus* a partir de sus extractos secos y expresando el contenido total de Flavonoides como mg/g de extracto seco equivalente de Quercetina.



Figura 36. Flujograma de trabajo para la cuantificación de Flavonoides totales expresados como Quercetina por espectrofotometría UV-V.

**ANÁLISIS CUANTITATIVO PARA FLAVONOIDES
POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-V**

PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	MUESTRAS	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES
Pesar 2,7 mg de quercetina en un balón de 10 ml	Pesar 20 mg de las muestras (extracto seco de harina e inflorescencias de amaranto) en un balón de 10 ml	Calcular la concentración de flavonoides usando la curva estándar
Llevar a volumen con etanol al 80%	Llevar a volumen con etanol al 80%	Expresar como quercetina
Tomar 700 μ l, 350 μ l, 175 μ l y 100 μ l en balones de 10 ml.	Colocar 100 μ l + 200 μ l de acetato de potasio 1M + 200 μ l de nitrato de aluminio al 10%, en un balón de 10 ml.	
Añadir en cada uno 200 μ l de acetato de potasio 1M + 200 μ l de nitrato de aluminio al 10%.	Aforar con etanol al 80%	
Aforar con etanol al 80%	Dejar reposar 40 min	
Leer a 415 nm.	Centrifugar a 2500 rpm por 10min	
Elaborar curva estándar	Leer el sobrenadante a 415 nm	

Nota: se trabajó por triplicado a partir de 20 mg de extracto seco (harina e inflorescencias de *A. hybridus*) y realizando tres lecturas de absorbancia para cada muestra, de igual forma se trabaja con la curva de calibración, partiendo de 2,7 mg de estándar de Quercetina por triplicado (ver Anexo16).



2.4. ANALISIS SENSORIAL DE LAS GALLETAS

El Análisis Sensorial, es el examen de los caracteres organolépticos de un producto mediante los sentidos, obteniendo datos cuantificables y objetivables. Este análisis es tan importante como los métodos químicos, físicos, microbiológicos, etc.

Para que un alimento sea aceptado depende de muchos factores, entre los que destacan sus propiedades sensoriales en las que se incluye el color, como primer contacto, el sabor, el olor, la textura y hasta el sonido que se genera durante su consumo, todos estos atributos son importantes en el momento de elaborar un nuevo producto.

2.4.1. DESCRIPCIÓN DE ALGUNOS ATRIBUTOS DE LOS ALIMENTOS:

Aspecto: el aspecto de un alimento incluye su tamaño, forma, color, estructura, transparencia o turbidez, palidez o brillo. Este atributo es detectado por el sentido de la vista.

Sabor: es la sensación que ciertos compuestos producen en el órgano del gusto. El sabor se percibe principalmente por la lengua, aunque también por la cavidad bucal (por el paladar blando, la pared posterior de la faringe y la epiglotis). Las papilas gustativas de la lengua registran los cuatro sabores básicos: dulce, ácido, salado y amargo, en las determinadas zonas preferenciales de la lengua; así, lo dulce en la punta, lo amargo en el extremo posterior y lo salado y ácido en los bordes (35).

Color: El mundo que nos rodea tiene color y con base a éste se identifican muchas de las propiedades de los alimentos: de hecho, el color es el primer contacto que tiene el consumidor con los productos y posteriormente los juzga por su textura, sabor, etc. Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos, principalmente orgánicos, algunos que se producen durante su manejo y procesamiento, y otros que son pigmentos naturales o colorantes sintéticos añadidos (36).



Olor: es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos, dicha propiedad en la mayoría de las sustancias olorosas es diferente para cada una.

Textura: es la propiedad de los alimentos apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído, que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación.

2.4.2. EVALUACIÓN HEDÓNICA

Es una prueba de degustación que está destinada a medir cuánto agrada o desagrada un producto.

En estas pruebas las muestras se presentan individualizadas, en diferente orden para cada individuo y se pide al catador que las califique de acuerdo a escalas categorizadas, que pueden tener diferente número de categorías y que comúnmente van desde “me gusta muchísimo”, pasando por “no me gusta ni me disgusta”, hasta “me disgusta muchísimo”. Los panelistas indican el grado en que les agrada cada muestra, escogiendo la categoría apropiada.

2.4.3. DEGUSTACIÓN DE LAS “GALLETAS DE AMARANTO”.

La evaluación sensorial de las “Galletas de Amaranto” se realizó en el Laboratorio de Análisis microbiológico de la Universidad de Cuenca, se contó con un grupo de 50 panelistas de ambos sexos (27 mujeres y 23 hombres), alumnos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, cuyas edades estuvieron comprendidas entre 17 a 30 años.

Se calificaron 5 muestras de galletas correspondientes a cada lote, las que estaban debidamente codificadas. Las características sensoriales evaluadas fueron: aspecto general, sabor, color, olor, textura, dulzor y presencia de sabor extraño (ya que se emplea una materia prima que no es común, y que puede o no aportar un sabor diferente).



Para la calificación de los distintos lotes de galletas se empleó un método descriptivo por puntaje, aplicando un cuestionario (ver Figura 38) con una escala hedónica de cinco puntos.

Cuadro 9. Escala hedónica aplicada en la evaluación sensorial de las “Galletas de Amaranto”.

5	Me gusta mucho
4	Me gusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
2	No me gusta
1	Me disgusta

2.4.3.1. PROCEDIMIENTO PARA LA DEGUSTACIÓN DE LAS “GALLETAS DE AMARANTO”:

- Las pruebas de degustación se realizaron a las 20 horas de elaboradas las galletas, a un grupo de personas se las realizó a las 11 de la mañana y a otro grupo a las 4 de la tarde.
- Para la aplicación de la hoja de degustación se tomó en cuenta la edad, el sexo y se excluyeron a las personas que fuman.
- Antes de comenzar con las pruebas de degustación se selecciona el orden en que se van a presentar las cinco muestras de galletas en forma aleatoria, y se les identifica por un código de tres números, sin seguir un orden específico (ver Cuadro 10).

Cuadro 10. Identificación de las muestras según el orden de presentación en la degustación.

Orden de presentación	Código de muestra	Número de Galleta
1	Muestra 548	Galleta 4
2	Muestra 540	Galleta 3
3	Muestra 555	Galleta 2
4	Muestra 529	Galleta 1
5	Muestra 597	Galleta 5

Procedimiento:

1. Se ubica a cada degustador dentro de la sala de catación.
2. Se proporciona el cuestionario.
3. Se da información acerca del producto, la forma de probarlo y calificarlo.
4. Se coloca las cinco galletas correspondientes a cada lote en platos desechables con su respectivo código de identificación en el centro de la mesa frente a los degustadores.
5. Se proporciona de una en una cada galleta para su degustación.
6. Se provee un cierto tiempo para que cada persona deguste la muestra y llene el cuestionario.
7. Se proporciona agua al degustador para que la beba entre cada degustación.

NOTA: la encuesta duró aproximadamente 15 minutos, en general no se presentaron complicaciones, a los catadores se les hizo hincapié en la calificación del sabor extraño, así, cuando este atributo le es indiferente su calificación es 3 puntos.



Figura 37. Degustación de las “Galletas de amaranto”.



MUESTRA 597					
Aspecto general	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Olor	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Dulzor	1	2	3	4	5
Sabor extraño	1	2	3	4	5

EN FORMA GENERAL CONTESTE LO SIGUIENTE:

¿Cuál es la muestra que más le gustó?

¿Cuál es la muestra que menos le gustó?

Fuente: Ing. Ruth Cecilia Álvarez, Curso de Conservas Vegetales dictado en la Universidad de Cuenca.



CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. ANÁLISIS DE LA HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y HARINA DE TRIGO.

3.1.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS PARA LA HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y HARINA DE TRIGO.

Los análisis microbiológicos para la harina integral de amaranto tostado y para la harina de trigo dieron como resultado recuentos microbianos menores al límite máximo establecido en la NTE INEN 616:98 que se toma como referencia para el desarrollo de esta investigación (ver cuadro 11 y 12), considerando para la harina de trigo los requisitos microbiológicos como una unidad de análisis, mientras que para la harina integral de amaranto tostado se considera la tabla de los requisitos microbiológicos para lotes o partidas (ver anexo 1).

Por lo que se consideran que estas harinas son microbiológicamente seguras y aptas para el consumo humano.

Cuadro 11. Resultados microbiológicos para la harina integral de amaranto tostado.

Requisitos	Unidad	Resultados	Límite máximo permitido INEN 616:98
Aerobios mesófilos	UFC/g	$8,9 \times 10^3$	10^8
Coliformes	UFC/g	$< 1,0 \times 10^1$	10^3
E. coli	UFC/g	0	0
Salmonella	UFC/25g	Ausencia en 25g	0
Mohos y levaduras	UPC/g	$1,9 \times 10^2$	10^3

Cuadro 12. Resultados microbiológicos para la harina de trigo.

Requisitos	Unidad	Resultados	Límite máximo permitido INEN 616:98
Aerobios mesófilos	UFC/g	$9,8 \times 10^2$	100.000
Coliformes	UFC/g	$< 1,0 \times 10^1$	100
E. coli	UFC/g	0	0
Salmonella*	UFC/25g	Ausencia en 25g	0
Mohos y levaduras	UPC/g	$4,9 \times 10^2$	500

(*) La prueba rápida para la detección de *Salmonella* en la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo mostró una línea en la zona C pero no en la T, que de acuerdo a la interpretación de los resultados es prueba negativa para *Salmonella* (ver Figura 39).

LÍNEA CONTROL

**Figura 39.** Resultados de la prueba rápida para detección de *Salmonella* en la harina integral de amaranto tostado.

3.1.2. ANÁLISIS FISCOQUÍMICO Y BROMATOLÓGICO PARA LA HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO Y HARINA DE TRIGO.

Para fines de comparación, a los resultados obtenidos en el análisis físicoquímico de la harina integral de amaranto tostado, se los compara con los resultados obtenidos en el análisis de la harina de trigo, así mismo se hace una comparación con los requisitos físicoquímicos para harina de trigo integral, establecidos en la Norma INEN 616:98, ya que la harina integral de amaranto tostado se obtuvo por la molienda del grano entero, conteniendo todas las partes del grano.

3.1.2.1. HUMEDAD. Los resultados del análisis de humedad de la harina integral de amaranto tostado y de la harina de trigo se muestran en el Cuadro 13, observándose que cumplen con los requisitos físicos y químicos de la harina de trigo establecidos en la norma INEN 616:98, dicha norma exige como máximo una humedad de 15% para la harina integral de trigo y el valor obtenido en el análisis de la harina integral de amaranto tostado es de 9,57%, mientras que para la harina de trigo se establece un valor de humedad máximo de 14,5 % y el valor de humedad en la muestra de harina de trigo es de 13,20%.

Cuadro 13. Porcentajes de humedad de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

Muestras	REPLICA	% Humedad	
		Resultados	INEN 616:98
Harina de trigo	1	13,285	Harina de trigo Máximo: 14,5
	2	13,122	
	Promedio	13,203	
Harina integral de amaranto tostado	1	9,505	Harina integral de trigo Máximo: 15
	2	9,650	
	Promedio	9,577	

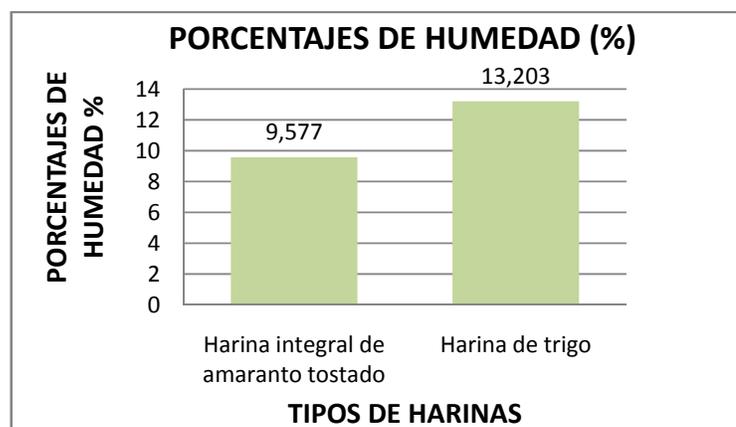


Figura 40. Porcentajes de humedad de la harina integral de amaranto tostado y la harina de trigo.

3.1.2.2. ACIDEZ TITULABLE. Los resultados del análisis de acidez titulable de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo se muestra en el cuadro 14, donde se observa que cumplen con los requisitos físicos y químicos de la harina de trigo establecidos en la norma INEN 616:98, dicha norma exige como máximo de acidez 0,1% para ambos tipos de harinas (en porcentaje de masa de ácido sulfúrico) y el valor obtenido en el análisis de la harina integral de amaranto tostado es de 0,10 % y para la harina de trigo es de 0,09%.

Cuadro 14. Porcentajes de acidez titulable (en porcentaje de masa de ácido sulfúrico) de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

Muestras	REPLICA	% ACIDEZ TITULABLE (base seca)	
		Resultados	INEN 616:98
Harina integral de amaranto tostado	1	0,10	Harina integral de trigo Máximo: 0,1
	2	0,11	
	Promedio	0,105	
Harina de trigo	1	0,1	Harina de trigo Máximo: 0,1
	2	0,09	
	Promedio	0,095	

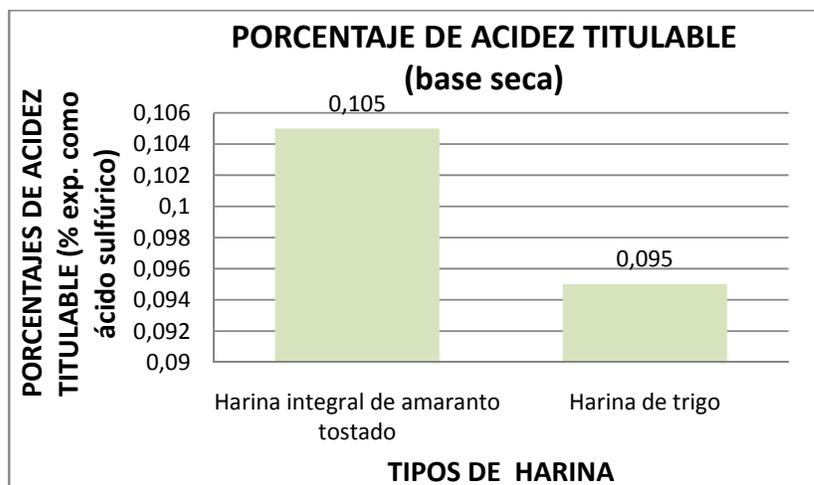


Figura 41. Porcentajes de acidez titulable en base seca (en porcentaje de masa de ácido sulfúrico) de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.



Figura 42. Muestras para la determinación de Acidez por titulación.

3.1.2.3. PROTEÍNA: el contenido de proteína de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo se muestra en el cuadro 15, donde se observa que cumplen con los requisitos físicos y químicos para la harina de trigo establecidos en la norma INEN 616:98, dicha norma exige como mínimo un 9% de proteína para la harina de trigo y el resultado de la muestra de harina de trigo ensayada es de 13,72%, mientras que el valor mínimo de proteína para la harina integral de trigo es del 11% y el resultado para la harina integral de amaranto tostado es de 17,02%.

Demostrando que el contenido de proteína de la harina integral de amaranto tostado es superior a la harina de trigo, tal como se indica en la literatura.

Además según datos bibliográficos, esta proteína es de buena calidad por su contenido en lisina, lo que permite una excelente complementación aminoacídica con las proteínas del trigo, que posee sólo pequeñas cantidades de lisina.

Cuadro 15. Porcentaje de proteína en harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

MUESTRAS	REPLICA	% Proteína (base seca)	
		Resultados	INEN 616:98
Harina integral de amaranto tostado	1	16,948	Harina integral de trigo Mínimo: 11
	2	17,095	
	Promedio	17,022	
Harina de trigo	1	13,652	Harina de trigo Mínimo: 9
	2	13,79	
	Promedio	13,721	

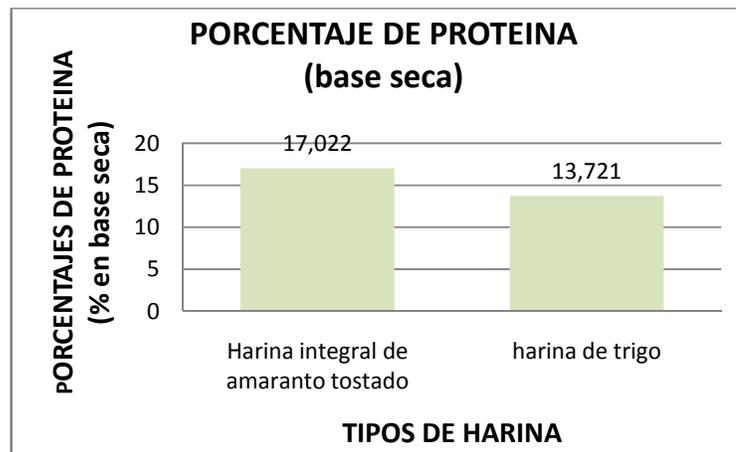


Figura 43. Porcentaje de proteína en base seca en la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.



Figura 44. Digestión de la materia orgánica en las muestras.

3.1.2.4. GRASA: los resultados del análisis de la grasa en base seca en la harina integral de amaranto tostado es de 7,11%, mientras que para la harina de trigo es de 1,76%, lo cual indica un mayor contenido de lípidos en la harina integral de amaranto tostado con respecto a la harina de trigo.

Además según datos bibliográficos, en la composición de estas grasas destaca la presencia de ácido oleico y ácido linoleico, que suponen alrededor del 75% de la grasa total presente en el grano y que ejercen una acción beneficiosa sobre los vasos sanguíneos y el corazón

Cuadro 16. Porcentajes de grasa de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

MUESTRAS	REPLICA	% GRASA (base seca)
Harina integral de amaranto tostado	1	7,211
	2	7,01
	Promedio	7,11
Harina de trigo	1	1,774
	2	1,753
	Promedio	1,763

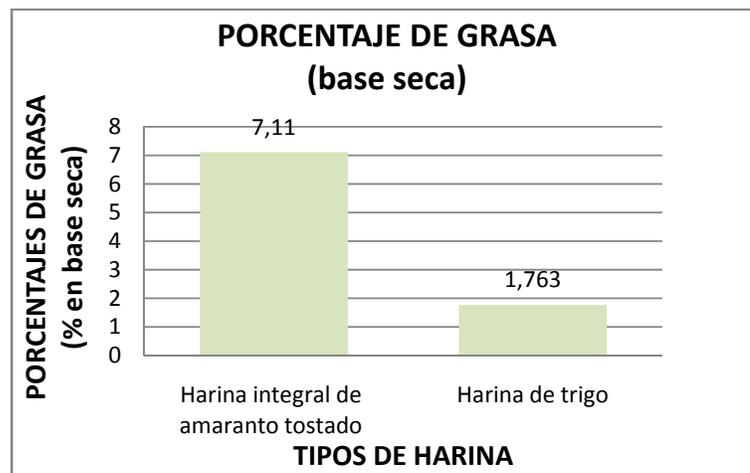


Figura 45. Porcentajes de grasa en base seca para la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.



Figura 46. Contenido de grasa de la harina integral de amaranto tostado.

3.1.2.5. FIBRA CRUDA: el análisis de fibra cruda para harina integral de amaranto tostado da un valor de 12,48% (base seca), cuyo valor es alto, debido a que se partió de la semilla entera para la obtención de dicha harina, que la caracterizan como una harina integral, mientras que en la harina de trigo se obtuvo un resultado de cero para fibra cruda.

Cuadro 17. Porcentaje de fibra cruda de la harina integral de amaranto tostado.

MUESTRAS	REPLICA	% FIBRA CRUDA (base seca)
Harina integral de amaranto tostado	1	12,741
	2	12,23
	Promedio	12,486



Figura 47. Contenido de fibra cruda en la harina integral de amaranto tostado.

3.1.2.6. HIDRATOS DE CARBONO: el contenido de carbohidratos en la harina integral de amaranto tostado y en la harina de trigo fue calculado por diferencia, utilizando los resultados del análisis de humedad, grasa, proteína, fibra, cenizas en base seca (ver cuadro 18).

Cuadro 18. Porcentaje de hidratos de carbono (por diferencia).

Muestras	% Hidratos de carbono (base seca)
Harina integral de amaranto tostado	49,16
Harina de trigo	70,64

3.1.2.7. CENIZAS: el contenido de ceniza en la harina integral de amaranto tostado es de 4,64%, valor mucho mayor con respecto a la harina de trigo, que tiene un valor de 0,66% tal como se muestra en el cuadro 19. Siendo el contenido de ceniza en la harina integral de amaranto tostado mayor a lo establecido en los requisitos físicos y químicos de la harina de trigo establecidos en la norma INEN 616:98, dicha norma exige como máximo de ceniza un valor de 0,85% para harina de trigo y 2% para la harina integral de trigo, esto se puede deber a que después de realizar la molienda del grano de amaranto entero, no se tamiza por lo que la harina puede contener residuos del episperma de la semilla, que se caracterizan por un mayor contenido en materia mineral.

Cuadro 19. Contenido de cenizas de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

MUESTRAS	REPLICA	% CENIZA (base seca)	
		Resultados	INEN 616:98
Harina integral de amaranto tostado	1	4,831	Harina integral de trigo Máximo: 2%
	2	4,451	
	Promedio	4,641	
Harina de trigo	1	0,740	Harina de trigo Máximo: 0,85%
	2	0,593	
	Promedio	0,667	

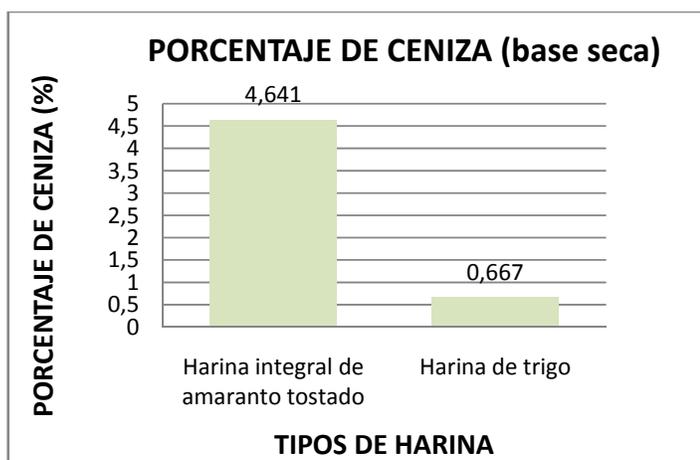


Figura 48. Contenido de cenizas en la harina integral de amaranto tostado comparado con la harina de trigo.

3.1.2.8. CALCIO: el resultado del análisis de calcio en la harina integral de amaranto tostado es de 622,05 mg/100g de muestra, valor muy superior comparado con los resultados obtenidos para la harina de trigo, en la que se obtiene un valor de 59,09 mg/100g de muestra, lo cual indica que la harina integral obtenida a partir del grano tostado de *A. hybridus* es una muy buena fuente de calcio en la alimentación.

Cuadro 20. Contenido de calcio en la harina integral de amaranto tostado y en la harina de trigo

MUESTRAS	REPLICA	mg Calcio/100g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	1	634,35
	2	609,75
	Promedio	622,05
Harina de trigo	1	59,05
	2	59,04
	Promedio	59,05

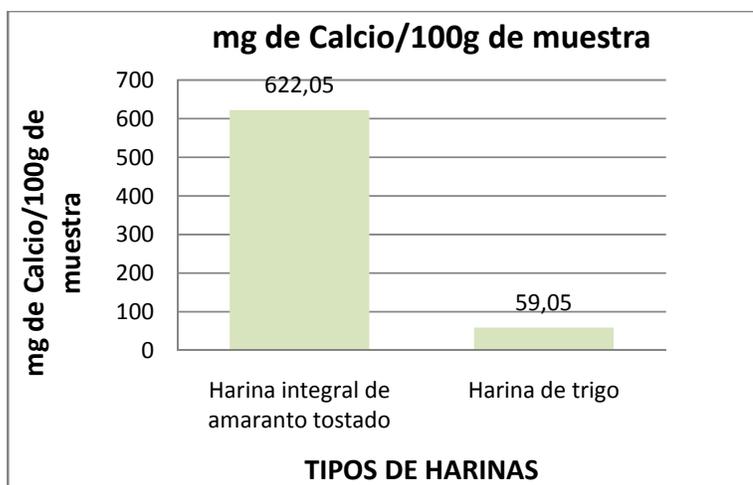


Figura 49. mg de Calcio/100g de muestra en la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

3.1.2.9. HIERRO: el resultado del análisis de hierro en la harina integral de amaranto tostado es de 10,40 mg/100g de muestra, valor superior comparado con el resultado obtenido en la harina de trigo y que es de 2,03 mg/100g de muestra, lo cual indica que la harina integral obtenida a partir del grano tostado de *A. hybridus* es una muy buena fuente de hierro en la alimentación.

Además, teniendo en cuenta que comúnmente la harina de trigo que se emplea en la panificación es enriquecida con hierro, una combinación de estos dos tipos de harinas, puede ser favorable para incrementar el contenido de este mineral en la harina de trigo.

Cuadro 21. Contenido de hierro en la harina integral de amaranto tostado y en la harina de trigo.

MUESTRAS	REPLICA	mg Hierro/100g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	1	9,602
	2	11,20
	Promedio	10,40
Harina de trigo	1	2,15
	2	1,9
	Promedio	2,03

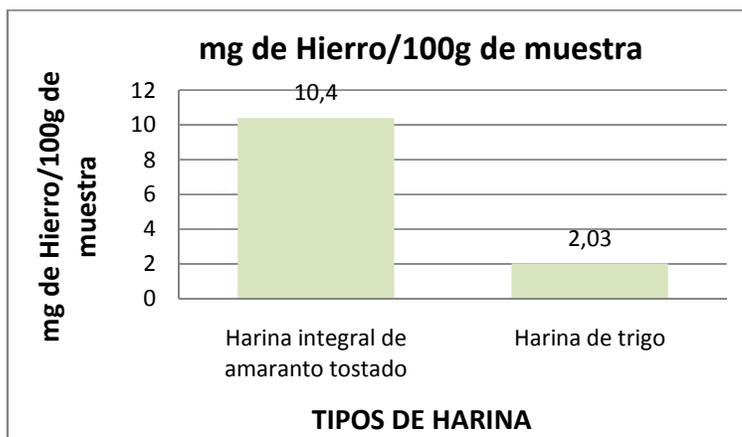


Figura 50. mg de Hierro/100g de muestra en la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

3.1.2.10. FÓSFORO: el resultado del análisis de fósforo en la harina integral de amaranto tostado da un valor de 597,46 mg/100g de muestra, valor muy superior comparado con el resultado de la harina de trigo, que es 101,38 mg/100g de muestra, lo cual indica que la harina integral obtenida a partir del grano tostado de *A. hybridus* es una muy buena fuente de fósforo en la alimentación.

Cuadro 22. Contenido de fósforo en la harina integral de amaranto tostado y en la harina de trigo

MUESTRAS	REPLICA	mg Fósforo/100g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	1	609,88
	2	585,04
	Promedio	597,46
Harina de trigo	1	95,32
	2	107,43
	Promedio	101,38

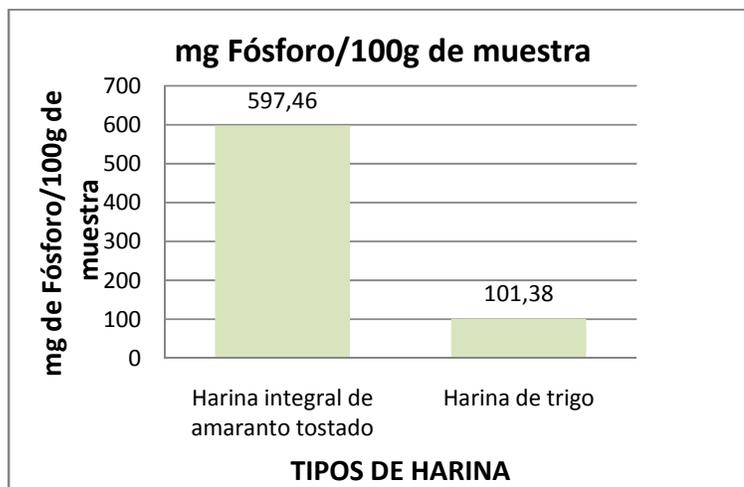


Figura 51. mg de Fósforo/100g de muestra en la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo.

3.1.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PARA LA HARINA INTEGRAL DE AMARANTO

3.1.3.1. DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

De todos los disolventes empleados para la extracción de sustancias solubles de la harina integral de amaranto el que presenta un mayor poder de extracción es el agua, seguido del etanol al 94%, acetato de etilo y éter de petróleo, que tienen una misma capacidad de extracción y con un más bajo poder de extracción están el metanol al 85% y etanol al 80%.

Cuadro 23. Porcentaje de sustancias solubles (base seca) en la harina integral de amaranto sin tostar.

Disolvente	% de sustancias solubles (base seca)
Agua	9,127
Metanol al 85%	3,422
Etanol al 80%	3,422
Etanol al 94%	6,845
Éter de petróleo	6,845
Acetato de etilo	6,845

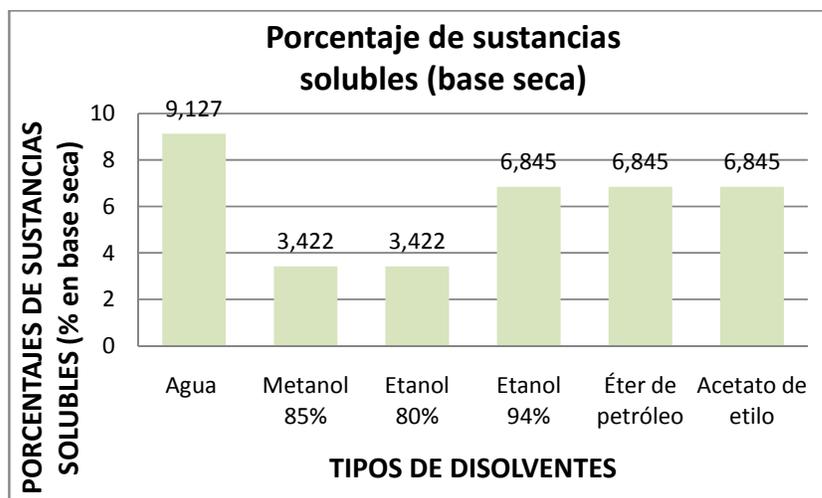


Figura 52. Porcentaje de sustancias solubles (base seca) en la harina integral de amaranto sin tostar vs tipos de disolventes.



Figura 53. Contenido de sustancias solubles en la harina integral de amaranto sin tostar con distintos solventes.

3.1.3.2. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS E IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

3.1.3.2.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO SECO

Una vez concentrados los extractos obtenidos por maceración de las muestras de semilla, harina integral e inflorescencias de *A. hybridus*, se procede a pesar los extractos secos de las muestras, obteniendo los siguientes pesos:

Cuadro 24. Peso del extracto seco obtenido por maceración de las diferentes partes evaluadas de *A. hybridus*.

	Harina integral	Semilla	Inflorescencia (1)	Inflorescencia (2)
Peso de la droga	15g	15g	15g	15g
Peso del extracto seco	212 mg	30,7 mg	341,1 mg	466 mg

3.1.3.2.2. ANÁLISIS CUALITATIVO

a) Ensayo del cloruro férrico para compuestos fenólicos

Al realizar la reacción de identificación de compuestos fenólicos mediante el ensayo con cloruro férrico, se detectó su presencia en las semillas, harina e inflorescencias de *A. hybridus*, por la aparición de coloraciones verdes, de mayor intensidad en las inflorescencias de *A. hybridus* (ver cuadro 25).

b) Ensayo de Shinoda para Flavonoides

Al realizar la reacción de identificación de flavonoides mediante el ensayo de variación de la reacción de Shinoda, se detectó su presencia en las semillas, harina e inflorescencias de *A. hybridus*, apareciendo coloraciones amarillas en la fase del alcohol amílico, que según datos bibliográficos puede deberse a la presencia de Flavonoides tipo Flavonas e Isoflavonas.

Cuadro 25. Resultados de las reacciones de identificación de compuestos fenólicos y flavonoides en las muestras.

MUESTRAS		COMPUESTOS FENÓLICOS	FLAVONOIDES
Inflorescencias	1	Positivo ++	Positivo ++
	2	Positivo ++	Positivo ++
Semilla de amaranto		Positivo +	Positivo +
Harina de amaranto		Positivo +	Positivo +



(a)



(b)

Figura 54. (a) Reacción positiva de cloruro férrico para compuestos fenólicos en harina, semilla e inflorescencias de *A. hybridus*. (b) Reacción positiva de Shinoda para Flavonoides en inflorescencias de *A. hybridus*.

c) Identificación del Flavonoide Quercetina por Cromatografía en capa fina

En la figura 55, se presenta una de las cromatoplasmas luego de revelada y siendo iluminada con luz ultravioleta a 365 nm, en ellas sólo se observó una banda correspondiente al estándar de Quercetina, lo que indica ausencia del Flavonoide Quercetina en las muestras de semilla, harina e inflorescencias de la especie *Amaranthus hybridus*, pero esto no significa la ausencia de otros tipos de Flavonoides en la planta.

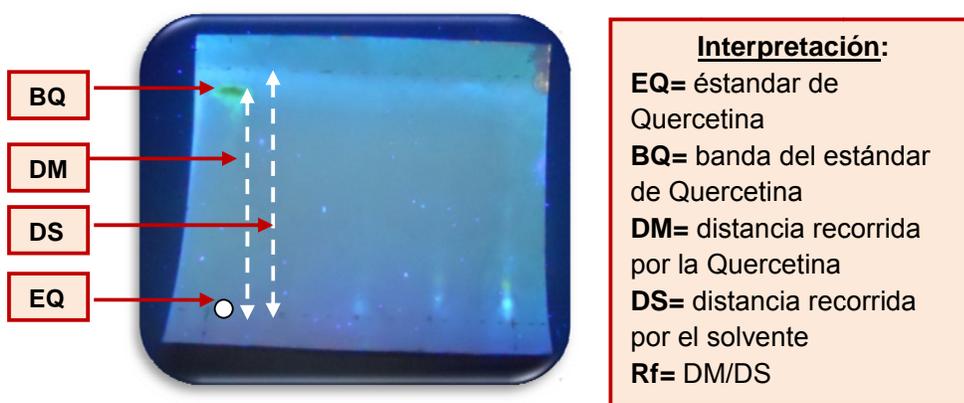


Figura 55. Descripción de la placa cromatográfica (A) observada en la cámara bajo luz UV.

Estándar Quercetina: produjo una mancha anaranjada intensa. El valor de su Rf (relación de frente=distancia recorrida por la sustancia/distancia recorrida por el solvente) fue de 0,91.

3.1.3.2.3. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

A partir de la curva patrón de Quercetina se determina la concentración de flavonoides totales en la harina integral e inflorescencias de *A. hybridus*. El contenido en flavonoides totales de la harina integral e inflorescencias de *A. hybridus* fue expresado como mg/g de extracto seco equivalente de quercetina.

En el cuadro 26, se puede apreciar que las inflorescencias de la especie *Amaranthus hybridus* presentan una mayor concentración de flavonoides



totales que la harina integral de amaranto, coincidiendo con lo observado en las reacciones de identificación para flavonoides.

Cuadro 26. Contenido de flavonoides totales (mg/g de extracto seco) expresados en Quercetina

MUESTRAS		FLAVONOIDES TOTALES expresados como quercetina (mg/g de extracto seco)	
		Resultados	Promedio
Inflorescencias	1	0,033	0,032
	2	0,030	
Harina integral de amaranto		0,011	0,011

3.2. ANÁLISIS DE LAS GALLETAS DE AMARANTO.

Para el desarrollo de la presente tesis se elaboraron galletas en base a cuatro sustituciones de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado y una galleta testigo de harina de trigo, a las que se les realizaron los siguientes análisis:

3.2.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA LAS GALLETAS DE AMARANTO.

Los análisis microbiológicos para las galletas de amaranto dieron como resultado que éstas no presentaron desarrollo microbiano (ver cuadro 27), cumpliendo lo establecido en la NTE INEN 2085:2005, de acuerdo a los requisitos microbiológicos para galletas simples por lote o partida de producto (ver anexo 3).

Por lo que se confirma que se han ejercido buenas prácticas de manufactura para la obtención de un producto inocuo, previniendo daño alguno al consumidor.

**Cuadro 27.** Resultados microbiológicos para las “Galletas de amaranto”.

Requisitos	Unidad	RESULTADOS					Límite máximo INEN 2085:2005
		GALLETA 1	GALLETA 2	GALLETA 3	GALLETA 4	GALLETA 5	
Aerobios mesófilos	UFC/g	< 1,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ⁴				
Mohos y levaduras	UPC/g	< 1,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ²				

3.2.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y BROMATOLÓGICO PARA LAS GALLETAS DE AMARANTO.

3.2.2.1. HUMEDAD: los resultados del análisis de humedad de las galletas de amaranto tal como se aprecia en el cuadro 28, muestran que todas las galletas cumplen los requisitos bromatológicos para galletas establecidos en la NTE INEN 2085:2005, dicha norma exige como máximo una humedad 10,0 % para galletas (ver Anexo 5) y la humedad de la galleta testigo (Galleta 1) es de 1,73% y para las galletas con amaranto van de un mínimo de humedad de 2,34% hasta un máximo de 4,98%.

Observándose que a medida que aumenta el porcentaje de sustitución de la harina de trigo por harina integral de amaranto tostado en las galletas, el porcentaje de humedad también lo hace, que se puede deber al incremento de la harina integral de amaranto tostado en cada galleta, a pesar que la harina integral de amaranto tostado contiene menos humedad que la harina de trigo.

Cuadro 28. Porcentajes de humedad de las galletas.

GALLETAS	REPLICAS	% Humedad	
		Resultados	INEN 2085:2005
1	1	1,476	Máximo: 10 %
	2	1,997	
	Promedio	1,736	
2	1	2,087	
	2	2,610	
	Promedio	2,348	
	1	2,263	

3	2	2,681	
	Promedio	2,472	
4	1	3,794	
	2	3,966	
	Promedio	3,880	
5	1	4,748	
	2	5,225	
	Promedio	4,986	

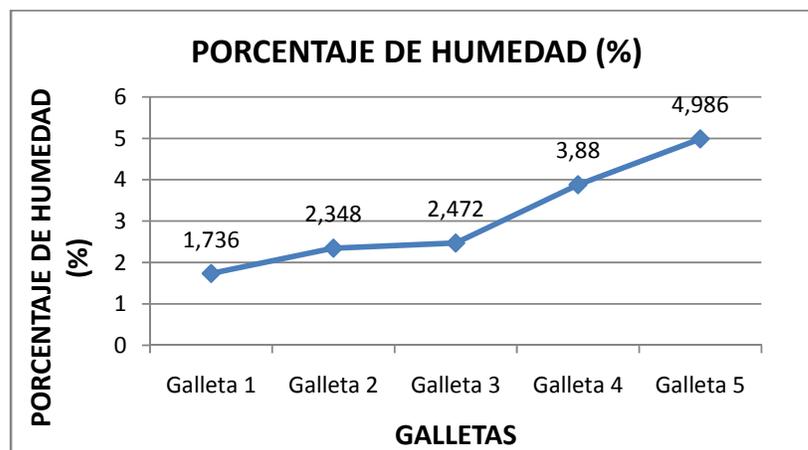


Figura 56. Porcentaje de humedad vs galletas.



Figura 57. Determinación de humedad de las galletas.

3.2.2.2. pH: los resultados del análisis de pH de las galletas tal como se observa en el cuadro 29 muestran que sus valores están dentro de los límites establecidos en los requisitos bromatológicos para galletas en la NTE INEN 2085:2005, dicha norma exige como mínimo un pH de 5,5 y un máximo de 9,5.

Cuadro 29. pH para las galletas.

GALLETAS	REPLICAS	pH	
		Resultados	INEN 2085:2005
1	1	6,82	Mínimo: 5,5 Máximo: 9,5
	2	6,83	
	Promedio	6,825	
2	1	6,85	
	2	6,84	
	Promedio	6,845	
3	1	6,78	
	2	6,77	
	Promedio	6,775	
4	1	6,90	
	2	6,82	
	Promedio	6,860	
5	1	6,93	
	2	6,93	
	Promedio	6,930	

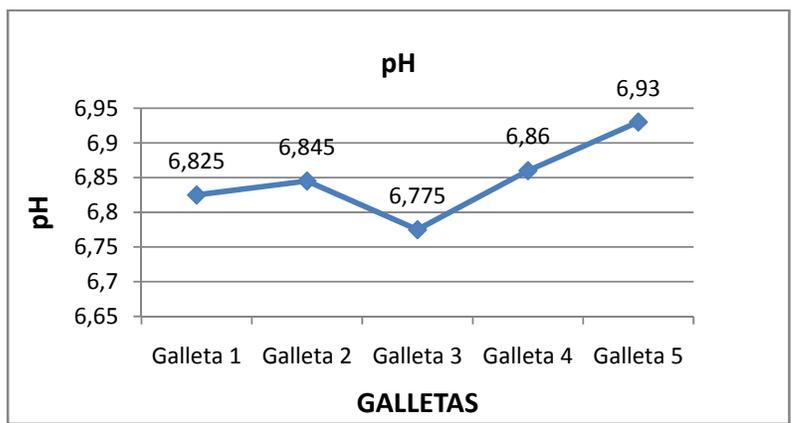


Figura 58. pH vs galletas.



Figura 59. Soluciones acuosas para la determinación de pH en las galletas.



3.2.2.3. PROTEÍNA: los resultados del análisis de proteína de las galletas tal como se observa en el cuadro 30 muestran que sus valores están dentro de los límites establecidos en los requisitos bromatológicos para galletas en la NTE INEN 2085:2005, dicha norma exige como mínimo un valor de proteína de 3% (ver Anexo 8).

Tal como se observa en la figura 60, el valor de proteína de las galletas con sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado es mayor que la galleta testigo (100% harina de trigo), consiguiendo uno de los objetivos de este trabajo que es incrementar el contenido proteico en un producto de consumo masivo como son las galletas, utilizando un alimento cuyo valor nutritivo es desconocido en nuestro medio.

Cuadro 30. Porcentaje de proteína en las galletas.

GALLETAS	REPLICA	% Proteína (base seca)	
		Resultados	INEN 2085:2005
1	1	8,051	Mínimo: 3%
	2	7,983	
	Promedio	8,017	
2	1	9,414	
	2	9,359	
	Promedio	9,386	
3	1	9,228	
	2	8,924	
	Promedio	9,076	
4	1	9,352	
	2	9,121	
	Promedio	9,237	
5	1	9,461	
	2	9,265	
	Promedio	9,363	

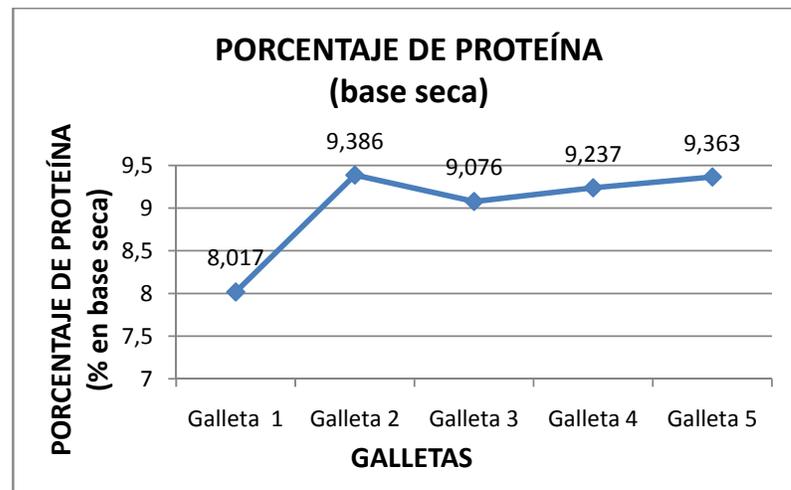


Figura 60. Porcentajes de proteína vs galletas (base seca).

3.2.2.4. GRASA: los resultados del análisis de grasa de las galletas varían indistintamente (ver Cuadro 31), siendo éstos elevados debido a la formulación de la galleta, en donde de todos los ingredientes utilizados, los que aportan la mayor cantidad de grasa son la mantequilla y el huevo, a pesar de que sus cantidades son constantes en todas las formulaciones de las galletas.

Cuadro 31. Porcentajes de grasa para las galletas.

GALLETAS	REPLICA	% GRASA en base seca
1	1	22,84
	2	24,497
	Promedio	23,669
2	1	21,526
	2	21,847
	Promedio	21,687
3	1	29,541
	2	22,343
	Promedio	25,942
4	1	23,32
	2	22,079
	Promedio	22,7
5	1	22,057
	2	22,116
	Promedio	22,086

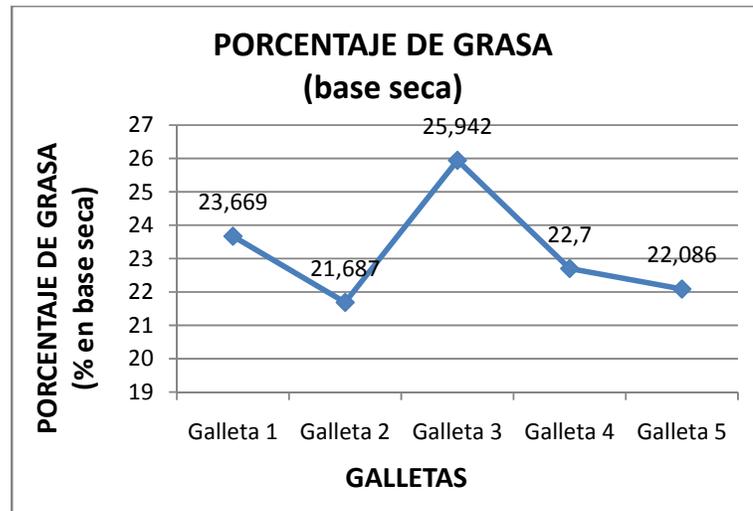


Figura 61. Porcentajes de grasa vs galletas (base seca).



Figura 62. Contenido de grasa para las galletas.

3.2.2.5. FIBRA CRUDA: los resultados del análisis de fibra cruda de las galletas tal como se observa en el cuadro 32, muestra su contenido aumenta en las galletas con sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, lo cual se debe al incremento en la proporción de harina integral de amaranto tostado en las galletas.

Según datos bibliográficos se conoce que la semilla de amaranto es una buena fuente de fibra dietaria, que tiene efectos benéficos en la salud humana.

Cuadro 32. Porcentajes de fibra cruda para las galletas.

GALLETAS	REPLICA	% FIBRA CRUDA en base seca
1	1	0,003
	2	0,007
	Promedio	0,005
2	1	0,694
	2	0,94
	Promedio	0,817
3	1	1,135
	2	1,477
	Promedio	1,306
4	1	1,738
	2	1,555
	Promedio	1,647
5	1	1,642
	2	2,302
	Promedio	1,972

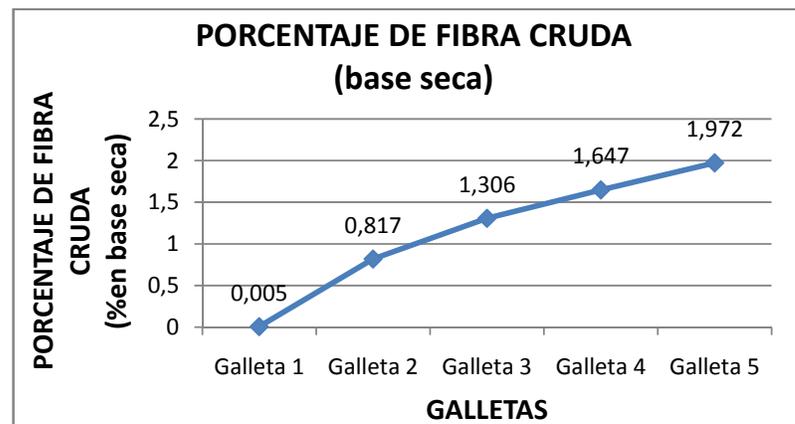


Figura 63. Porcentajes de fibra cruda vs galletas (base seca).

3.2.2.6. HIDRATOS DE CARBONO: los resultados del % de Hidratos de carbono calculado por diferencia tal como se observa en el cuadro 33 tienden a disminuir, debido a que el resto de componentes de las galletas (humedad, proteína, grasa, fibra y ceniza) suben conforme se aumenta el porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado.

Cuadro 33. Porcentaje de hidratos de carbono (por diferencia).

Galletas	% Hidratos de carbono
1	65,46
2	64,23
3	59,67
4	60,86
5	59,80

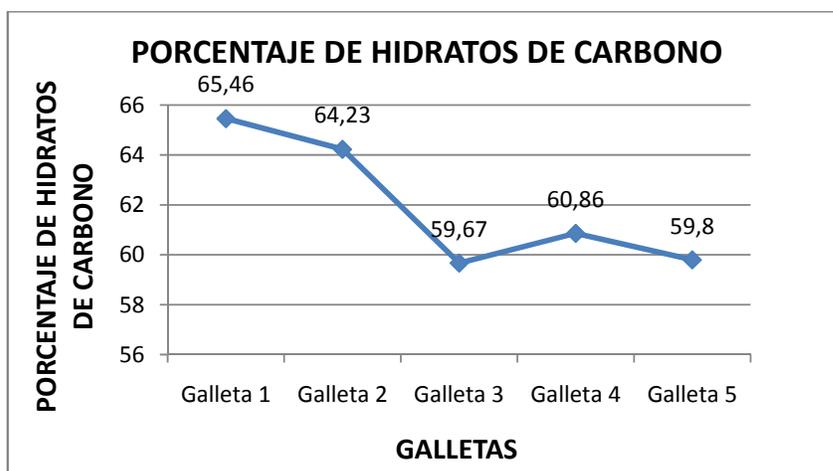


Figura 64. Porcentajes de Hidratos de carbono vs Galletas.

3.2.2.7. CENIZAS: el resultado del análisis de ceniza en las galletas tal como se observa en el cuadro 34 muestra que su contenido se eleva a medida que aumenta el porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado. Esto se debe al uso de harina integral de amaranto tostado con un elevado contenido de minerales.

Cuadro 34. Contenido de cenizas para las galletas.

GALLETAS	REPLICA	% CENIZAS en base seca
1	1	1,156
	2	1,069
	Promedio	1,113
2	1	1,588
	2	1,465

	Promedio	1,527
3	1	1,63
	2	1,432
	Promedio	1,531
4	1	1,663
	2	1,693
	Promedio	1,678
5	1	1,797
	2	1,786
	Promedio	1,792

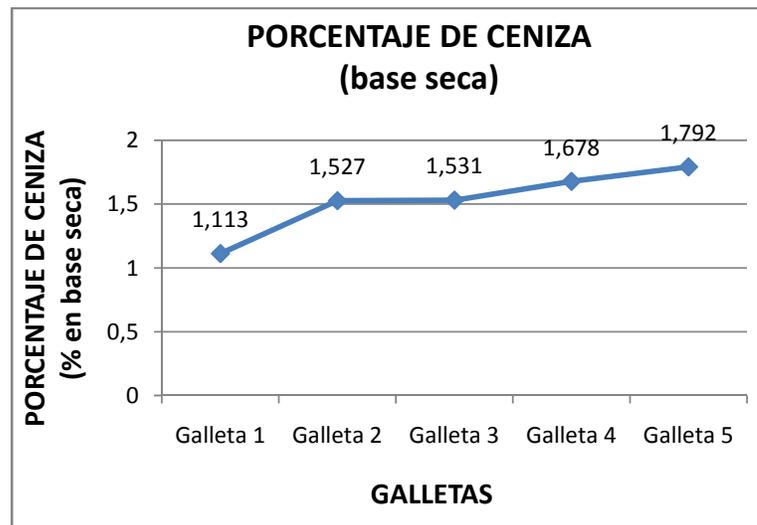


Figura 65. Porcentajes de ceniza vs galletas (base seca).



Figura 66. Contenido de cenizas de las galletas.

3.2.2.8. CALCIO: los resultados del análisis de calcio en las galletas se muestran en el cuadro 35, donde se observa que conforme aumenta el porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, aumenta el contenido en calcio con respecto a la galleta testigo (Galleta 1), esto se debe al uso de harina integral de amaranto tostado con un elevado contenido de calcio, brindando un alimento con un aporte significativo de calcio en la alimentación.

Cuadro 35. mg Calcio/100g de muestra.

GALLETA	REPLICA	mg Calcio/100g de muestra
1	1	64,84
	2	70,84
	Promedio	67,84
2	1	154,99
	2	195,65
	Promedio	175,32
3	1	189,39
	2	228,59
	Promedio	208,9
4	1	211,21
	2	239,73
	Promedio	225,47
5	1	245,32
	2	261,26
	Promedio	253,29

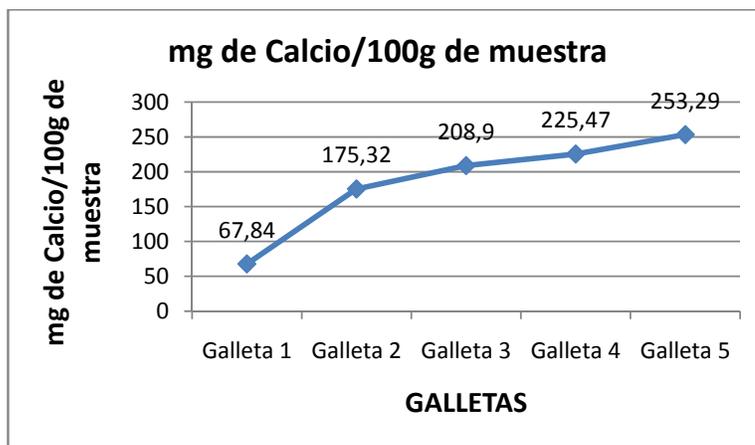


Figura 67. mg de Calcio/100g de muestra vs Galletas.

3.2.2.9. HIERRO: los resultados del análisis de hierro en las galletas se muestran en el cuadro 36, donde se observa que en las galletas con sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado hay un aumento en el contenido de hierro con respecto a la galleta testigo (Galleta 1), esto se debe al uso de harina integral de amaranto tostado con un elevado contenido de hierro, brindando un alimento con un gran aporte de hierro en la alimentación.

Cuadro 36. mg Hierro/100g de muestra.

GALLETA	REPLICA	mg Hierro/100g de muestra
1	1	1,9
	2	2,4
	Promedio	2,15
2	1	6,07
	2	7,43
	Promedio	6,75
3	1	6,66
	2	7,43
	Promedio	7,05
4	1	5,46
	2	6,17
	Promedio	5,82
5	1	4,87
	2	4,92
	Promedio	4,9

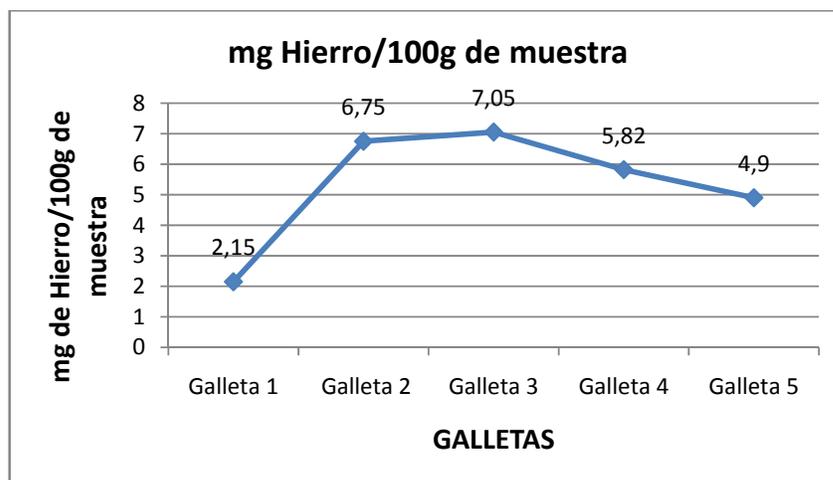


Figura 68. mg de Hierro/100g de muestra vs galletas.

3.2.2.10. FÓSFORO: los resultados del análisis de fósforo en las galletas se muestran en el cuadro 37, donde se observa que conforme aumenta el porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, aumenta el contenido en fósforo con respecto a la galleta testigo (Galleta 1), esto se debe al uso de harina integral de amaranto tostado con un elevado contenido de fósforo, brindando un alimento con un buen aporte de fósforo en la alimentación.

Cuadro 37. mg de Fósforo/100g de muestra de las galletas.

GALLETA	REPLICA	mg Fósforo/100g de muestra
1	1	152,67
	2	162,35
	Promedio	157,51
2	1	217,02
	2	219,82
	Promedio	218,42
3	1	244,35
	2	248,88
	Promedio	246,62
4	1	267,29
	2	268,80
	Promedio	268,05
5	1	264,79
	2	268,76
	Promedio	266,78

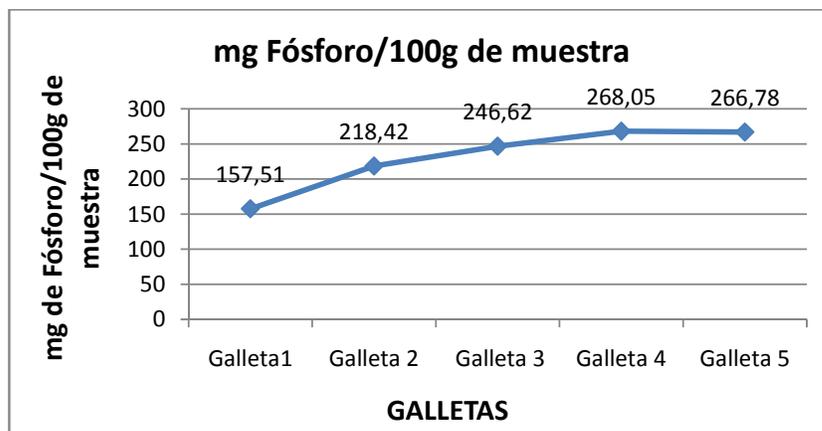


Figura 69. mg de Fósforo/100g de muestra vs Galletas.



3.3. ANÁLISIS SENSORIAL

La prueba de degustación se empleó para evaluar el grado de satisfacción o aceptabilidad de las “Galletas de amaranto”, con el fin de determinar cuál de ellas es la más aceptada o preferida.

3.3.1. CALIFICACIÓN DE LAS GALLETAS POR CADA ATRIBUTO

Con los resultados que se obtienen después de aplicar las pruebas de degustación al panel sensorial expresados en porcentaje (ver Anexo 17), se evalúa la aceptabilidad que presenta cada galleta en cuanto a su aspecto general, sabor, color, olor, textura, dulzor y sabor extraño. Para ello se considera un porcentaje mínimo de aceptabilidad del 70%.

3.3.1.1. ASPECTO GENERAL

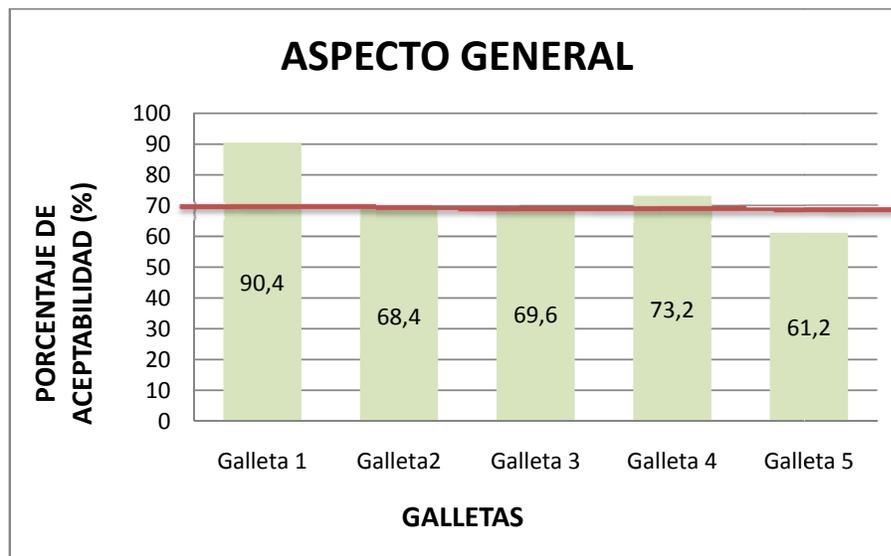


Figura 70. Porcentaje de aceptabilidad del “Aspecto General” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “aspecto general” tal como se observa en la Figura 70, muestran que la “Galleta 1” y “Galleta 4” se encuentran por encima del límite de aceptabilidad (70%), siendo estas galletas las que presentan mayor aprobación en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, mientras que el resto de las galletas tienen valores por debajo de este límite.

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 1
- 2) Galleta 4
- 3) Galleta 3
- 4) Galleta 2
- 5) Galleta 5

3.3.1.2. TEXTURA

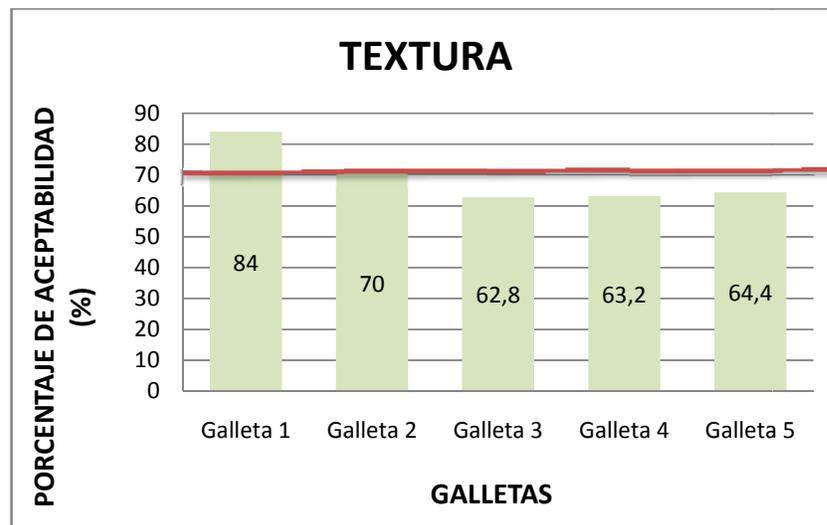


Figura 71. Porcentaje de aceptabilidad de la “Textura” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto a la “textura” tal como se observa en la Figura 71, muestran que la “Galleta 1” se encuentra sobre el límite de aceptabilidad (70%), mientras que la “Galleta 2” se encuentran en el límite de aceptabilidad (70%), siendo estas galletas las que presentan mayor aprobación en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, mientras que el resto de las galletas tienen valores por debajo de este límite.

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 1
- 2) Galleta 2
- 3) Galleta 5
- 4) Galleta 4
- 5) Galleta 3

3.3.1.3 SABOR

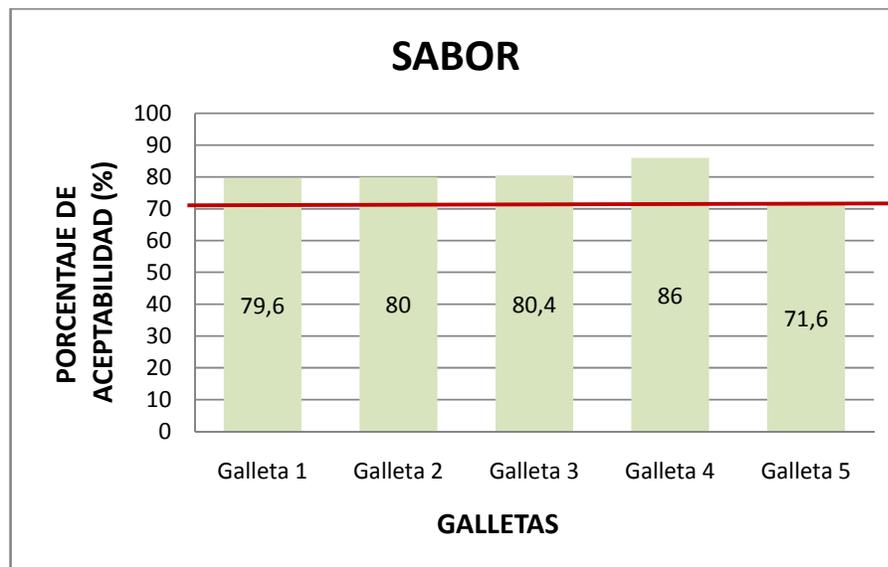


Figura 72. Porcentaje de aceptabilidad del “Sabor” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “Sabor” tal como se observa en la Figura 72, muestran que todas las galletas se encuentran por encima del límite de aceptabilidad (70%), siendo aprobadas en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, observando que el sabor de la “Galleta 2”, “Galleta 3” y “Galleta 4” tienen una mayor aprobación, con respecto a la “Galleta 1” (testigo).

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 4
- 2) Galleta 3
- 3) Galleta 2
- 4) Galleta 1
- 5) Galleta 5

3.3.1.4. DULZOR

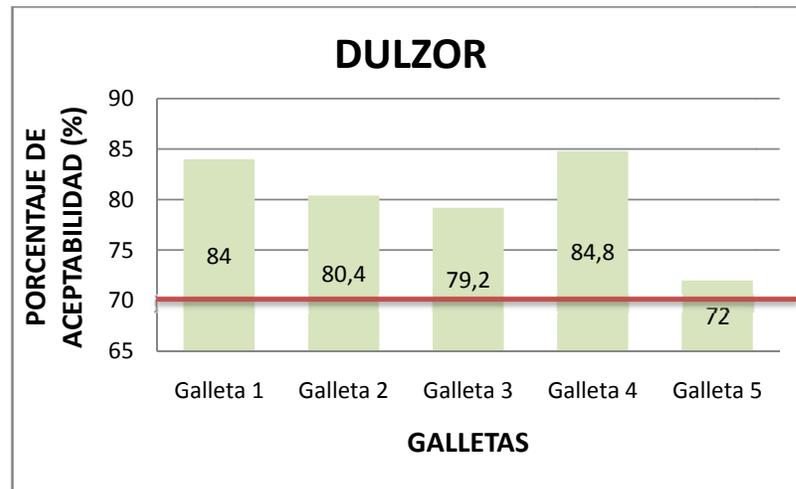


Figura 73. Porcentaje de aceptabilidad del “Dulzor” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “Dulzor” tal como se observa en la Figura 73, muestran que todas las galletas se encuentran por encima del límite de aceptabilidad (70%), siendo aprobadas en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, observando que el dulzor de la “Galleta 1” y “Galleta 4” tienen una mayor aprobación.

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 4
- 2) Galleta 1
- 3) Galleta 2
- 4) Galleta 3
- 5) Galleta 5

3.3.1.5. COLOR

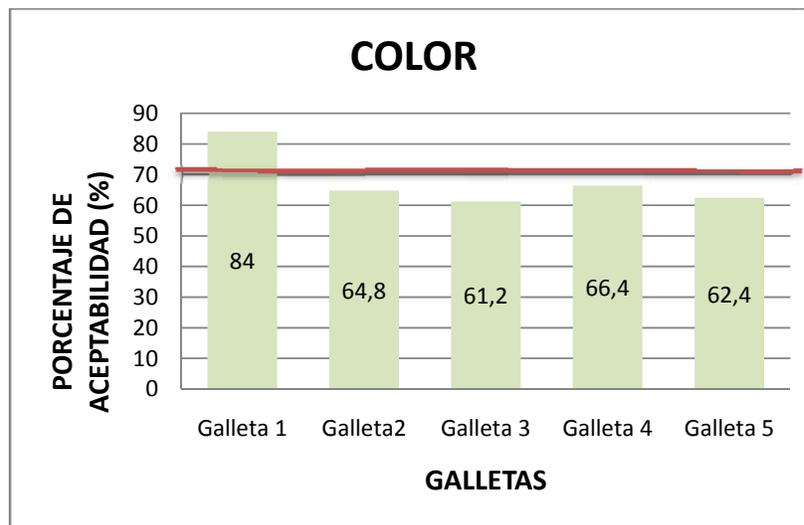


Figura 74. Porcentaje de aceptabilidad del “Color” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “Color” tal como se observa en la Figura 74, muestran que la “Galleta 1” es la única que se encuentra por encima del límite de aceptabilidad (70%), siendo la que presentan mayor aprobación en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, mientras que el resto de las galletas tienen valores por debajo de este límite, a pesar de que se incorporó colorante concentrado obtenido de las panojas de *A. hybridus* en la formulación de las galletas para mejorar su color.

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 1
- 2) Galleta 4
- 3) Galleta 2
- 4) Galleta 5
- 5) Galleta 3

3.3.1.6. SABOR EXTRAÑO

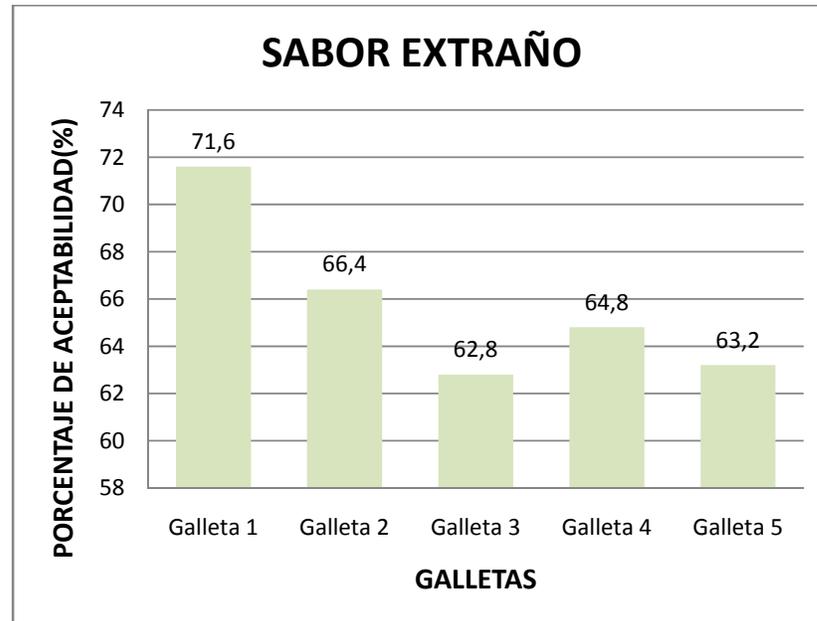


Figura 75. Porcentaje de aceptabilidad del “Sabor Extraño” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “Sabor extraño” tal como se observa en la Figura 75, muestran que la “Galleta 1” se encuentra por encima del límite de aceptabilidad (70%), mientras que el resto de las galletas tienen valores por debajo de este límite

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 1
- 2) Galleta 2
- 3) Galleta 4
- 4) Galleta 5
- 5) Galleta 3

3.3.1.7. OLOR

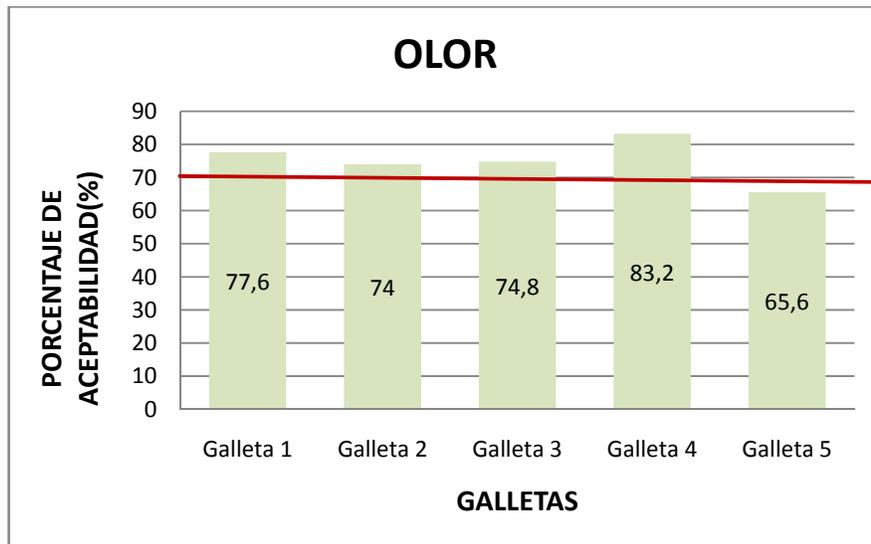


Figura 76. Porcentaje de aceptabilidad del “Olor” de las galletas.

Los resultados del análisis sensorial de las Galletas en cuanto al “Olor” tal como se observa en la Figura 76, muestran que la “Galleta 1”, “Galleta 2”, “Galleta 3” y “Galleta 4” se encuentran por encima del límite de aceptabilidad (70%), siendo aprobadas en cuanto a este atributo por parte de los degustadores, observando que el sabor de la “Galleta 4” tienen una mayor aprobación con respecto a la “Galleta 1” (testigo).

El orden de aceptación en cuanto a este atributo es el siguiente:

- 1) Galleta 4
- 2) Galleta 1
- 3) Galleta 3
- 4) Galleta 2
- 5) Galleta 5

3.3.2. CALIFICACIÓN GLOBAL DE LAS GALLETAS

Se evalúa la aceptabilidad global de las galleta considerando todos los atributos evaluados (aspecto general, sabor, color, olor, textura, dulzor y sabor extraño) (ver Anexo 17). Para ello se considera un porcentaje mínimo de aceptabilidad del 70%.

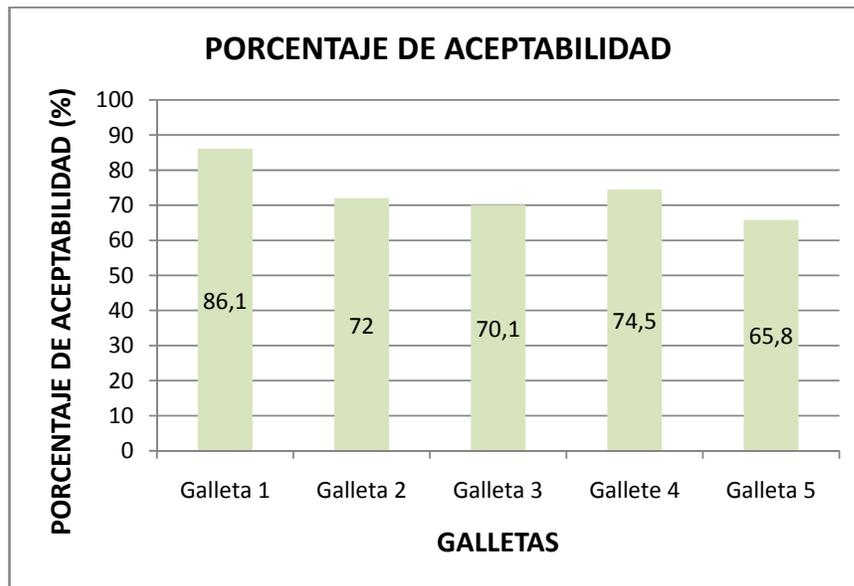


Figura 77. Porcentaje de aceptabilidad de las galletas considerando todos los atributos.

Sobre un porcentaje de 100 para la calificación de las galletas, tal como se observa en la Figura 77 las galletas: “Galleta 1”, “Galleta 2”, “Galleta 3” y “Galleta 4”, tuvieron una buena aceptación, por encima del límite de aceptabilidad (70%). Los resultados más altos en su mayoría fueron para la “Galleta 1” (testigo), pero para las galletas con sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado la que presenta un mayor puntaje fue la “Galleta 4”, es decir la que contiene un 70% de harina de trigo y 30% de harina integral de amaranto tostado, determinando que es la formulación idónea para los consumidores potenciales.



El orden de aceptación tomando en cuenta todos los atributos es el siguiente:

- 1) Galleta 1 (**TESTIGO**)
- 2) Galleta 4
- 3) Galleta 2
- 4) Galleta 3
- 5) Galleta 5

Entre los atributos que se pueden mejorar para una mayor aceptación del producto están el aspecto general, el color, la textura. Así, para mejorar el color se puede añadir más colorante concentrado de ataco a la formulación, para mejorar la textura se puede obtener una harina más fina resultante de la molienda.



RESULTADOS FINALES

1. Con el fin de establecer una comparación entre la harina integral de amaranto tostado y la harina de trigo, en el Cuadro 38 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos y bromatológicos efectuados en ambos tipos de harinas, donde se observa el mayor valor nutritivo de la harina integral de amaranto tostado en relación con la harina de trigo.

Cuadro 38. Composición de la harina integral de amaranto tostado y harina de trigo (expresada en base seca).

	HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO	HARINA DE TRIGO
Humedad (%)	9,577	13,203
Extracto seco (%)	90,423	86,797
Acidez titulable (%)	0,105	0,095
Proteína (%)	17,022	13,721
Grasa (%)	7,110	1,763
Fibra cruda (%)	12,486	0
Hidratos de carbono (%)	49,16	70,64
Cenizas (%)	4,641	0,667
Calcio (mg/100g)	687,933	68,032
Hierro (mg/100g)	11,501	2,339
Fósforo (mg/100g)	660,739	116,801

2. De igual manera con el fin de establecer una comparación entre la Galleta testigo (100% de harina de trigo) y las Galletas con distintos niveles de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, en el Cuadro 39 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos y bromatológicos efectuados en las galletas, donde se observa que el valor nutritivo de las galletas con harina integral de amaranto tostado es superior a la Galleta testigo y tiende a aumentar conforme se incrementa el porcentaje de sustitución.



Cuadro 39. Composición de los productos elaborados “Galletas de amaranto” (expresada en base seca).

	GALLETA 1	GALLETA 2	GALLETA 3	GALLETA 4	GALLETA 5
Humedad (%)	1,736	2,348	2,472	3,880	4,986
Extracto seco (%)	98,264	97,652	97,528	96,12	95,014
Proteína (%)	8,017	9,386	9,076	9,237	9,363
Lípidos (%)	23,669	21,687	25,942	22,700	22,086
Fibra cruda (%)	0,005	0,817	1,306	1,647	1,972
Hidratos de carbono (%)	65,46	64,23	59,67	60,86	59,80
Cenizas (%)	1,113	1,527	1,531	1,678	1,792
Calcio (mg/100g)	69,039	179,535	214,195	234,571	266,582
Hierro (mg/100g)	2,188	6,912	7,229	6,055	5,157
Fósforo (mg/100g)	160,293	223,672	252,871	278,870	280,780



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



CONCLUSIONES

1. Con esta investigación se logró el objetivo principal que es la elaboración de un snack “Galletas de Amaranto”, en base a distintos niveles de sustitución de harina de trigo por harina integral de amaranto tostado, que produjeron un incremento creciente de los niveles de proteína, fibra cruda, calcio, hierro y fósforo, por lo que la harina integral de amaranto tostado se presenta como una novedosa alternativa para la sustitución parcial de la harina de trigo en la elaboración de galletas, brindando un mayor aporte nutritivo en la alimentación.
2. Mediante la aplicación de reacciones de identificación y la cuantificación de Flavonoides en la harina integral e inflorescencias de *Amaranthus hybridus*, se comprueba que esta especie contiene Flavonoides, por lo que las “Galletas de amaranto”, al ser elaboradas con una materia prima con un contenido en Flavonoides, lo convierten en un producto con un uso potencial como “Alimento funcional”.
3. En cuanto a la harina integral de amaranto tostado esta tiene un alto valor nutritivo ya que contiene un alto contenido de proteína, grasa, fibra cruda, ceniza, calcio, hierro y fósforo, lo que la convierte en una excelente materia prima para el desarrollo de productos de galletería y otros productos alimenticios.
4. Debido a que las “Galletas de amaranto”, no presentaron crecimiento microbiológico, se confirma que se ha realizado un adecuado proceso de elaboración, obteniendo un producto inocuo para su consumo.
5. La “Galleta 4”, es decir la que está constituida por una mezcla de 70% de harina de trigo y 30% de harina integral de amaranto tostado, es la que tiene mayor aceptación, convirtiéndola en la formulación más idónea para su consumo, además su alto valor nutritivo y sus características de



inocuidad, permite afirmar que esta galleta puede constituir un alimento viable a ser elaborado en nuestro medio.

Los resultados del presente trabajo confirman que una combinación óptima de cereales con pseudocereales eleva el valor nutritivo, sin demeritar la palatabilidad del alimento.



RECOMENDACIONES

1. Se recomienda que se promueva el desarrollo agrícola de este pseudocereal en nuestro país, especialmente en nuestra región, en donde principalmente se usa la planta de *A. hybridus* para la elaboración de las tradicionales “Horchatas”, siendo desconocido su potencial uso en la alimentación, constituyendo una novedosa materia prima para el desarrollo de nuevos productos alimenticios.

Además, según el INIAP, actualmente hay un gran interés en el grano de *A. hybridus* para la exportación, así existen mercados demandantes en EEUU, Inglaterra, Australia, Italia, Francia y Sudáfrica. El interés de estos mercados se basa en el mejor sabor, valor nutritivo, procedencia orgánica y valor nutracéutico del grano.

2. Se recomienda tamizar la harina integral de amaranto tostado para la elaboración de las “Galletas de amaranto”.
3. Debido al alto valor nutritivo de la harina integral de amaranto tostado y de las galletas de amaranto, se sugiere la formulación de otros productos alimenticios utilizando como materia prima el grano de *A. hybridus*.
4. Se recomienda evaluar los aminoácidos esenciales de la harina integral de amaranto tostado (*A. hybridus*).
5. Conociendo el alto valor de fibra cruda en la harina integral de amaranto tostado, se sugiere determinar el contenido de fibra dietética, por su acción fisiológica en el organismo.
6. Se recomienda valorar el método extractivo idóneo para la obtención de los fitoconstituyentes de la semilla, harina e inflorescencias de *Amaranthus hybridus*.



BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

- (1) PERALTA, E., VILLACRÉS, E., MAZÓN, N., RIVERA, M., SUBIA, C., “El ataco, sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador”, Publicación miscelánea No. 143, Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos, Estación Experimental Santa Catalina, INIAP, Quito, Ecuador, 63 p, 2008.
- (2) PERALTA, E., “Amaranto y Ataco: Preguntas y respuestas”, Boletín divulgativo No. 359, Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos, Estación Experimental Santa Catalina, INIAP, Quito, Ecuador,. 8 p, Quito, Ecuador, 2009.
- (3) PERALTA, E., MAZÓN, N., MURILLO, A., VILLACRÉS, E., RIVERA, M., SUBÍA, C., “Catálogo de variedades mejoradas de granos andinos: chocho, quinua y amaranto, para la Sierra ecuatoriana”, Publicación Miscelánea No. 151, Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos, Estación Experimental Santa Catalina, INIAP, Quito, Ecuador, 24p, 2009.
- (4) MOREIRAS, Olga, CARBAJAL, Ángeles, CABRERA, Luisa, CUADRADO, Carmen, “Tabla de Composición de Alimentos”, 10^o Edición, Ediciones Pirámide, Madrid-España, 2006.
- (5) SCHMIDT-HEBBEL, Hermann, “Ciencia y tecnología de los Alimentos”, Editorial Universitaria, Santiago-Chile, 1973.
- (6) MURRAY, Robert K., GRANNER, Karyl K., MAYES, Peter A., RODWELL, Víctor W., “Bioquímica de Harper”, Editorial Manual Moderno, 12^o edición.
- (7) ROMAN M, María O., VALENCIA G, Francia E., “Evaluación de galletas con fibra de cereales como alimento funcional”, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, 2006, volumen 13, número 2, págs. 36-43, ISSN 0121-4004
- (8) DE LA CRUZ TORRES, Eulogio y GARCÍA ANDRADE, Juan Manuel, “Mejoramiento de PSEUDOCEREALES en el ININ”.
- (9) FAO, 1997, “El cultivo del amaranto (*Amaranthus* spp.): producción, mejoramiento genético y utilización”. Extraído 21 de diciembre del 2009, desde: www.fao.org.com



- (10) LARA VALDEZ, Nelly, “Del grano reventado del amaranto se obtienen excelentes elaborados”, Revista Desafía, Editor Fundacyt, Volumen cuatro, pág. 19-24.
- (11) Convenio Andrés Bello (base de datos en línea), “*Amaranthus caudatus*”. Extraído el 13 de marzo del 2010, desde:
http://www.convenioandresbello.org/cab3/sibd5/index.php?option=com_content&task=view&id=17&Itemid=50
- (12) BERGHOFER, E., SCHOENLECHNER, R., “Pseudocereals – an overview”, Departament of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna-Austria.
- (13) WHITE, Alan, “Hierbas del Ecuador”, Tercera Edición, Ediciones Libri Mundi, Quito-Ecuador, 1985.
- (14) FAO, 2000, “Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación”, 2º Edición. Extraído el 21 de diciembre del 2010, desde:
<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/home10.htm>
- (15) EDEL LEÓN, Alberto, ROSELL, Cristina, “DE TALES HARINAS, TALES PANES: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica”, 1º Edición, Córdoba, 2007.
- (16) TRUJILLO, Teresa Reyna, “Investigaciones recientes sobre amaranto”, Instituto de Geografía, México, 1988. Extraído el 14 de diciembre del 2010, desde:
http://books.google.com.ec/books?id=GzAX_GN7HbwC&pg=PA24&lpq=PA24&dq=amaranto+%2B+estudios&source=bl&ots=9IxJWrvp-P&sig=WuQAxUuB13vtMdfeoB_BQaxU6s8&hl=es&ei=0DfXSry7CdDe8AbuuqDcCA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CAoQ6AEwAQ#v=onepage&q=amaranto%20%2B%20estudios&f=false
- (17) FAO, “Importancia de los Cultivos Andinos en la Seguridad Alimentaria y nutrición”. Extraído el 24 de febrero del 2010, desde:
http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro07/Cap3_3.htm



- (18) El amaranto una planta con numerosos beneficios. Extraído el 15 de diciembre del 2010, desde:
<http://ozono21.blogspot.com/2009/03/el-amaranto-una-planta-con-numerosos.html>
- (19) LUTZ, Mariane, LEÓN, Alberto Edel, “Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación”, Universidad de Valparaíso, Editorial 2009, Chile.
- (20) VIDAL CAROU, M. Carmen, “Alimentos funcionales: Algunas reflexiones en torno a su necesidad, seguridad y eficacia y a cómo declarar sus efectos sobre la salud”, Revista HUMANITAS, Humanidades médicas; # 24, Febrero del 2008, ISSN: 1886-1601.
- (21) <http://www.amaranto.cl/iframe/noticias4.php> (Extraído el 15 de abril de 2010)
- (22) “El Amaranto, una planta con numerosos beneficios”. Extraído el 13 de marzo del 2010, desde: <http://www.info7.com.mx/a/noticia/60443>
- (23) MARTÍNEZ-FLÓREZ, S., GONZÁLEZ-GALLEGO, J., CULEBRAS, J. M. y TUÑÓN, M.^a J., “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes”, Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León, España; ISSN 0212-1611
- (24) LOCK, Olga, CABELLO, Isabel, DOROTEO, Víctor Hugo, “ANÁLISIS DE FLAVONOIDES EN PLANTAS”, Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias – Sección Química, Apartado 1761 - Lima – Perú.
- (25) <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/Chef/harina.htm>
(Extraído el 21 de marzo del 2010)
- (26) MONTES, Adolfo Leandro, “Bromatología”, TOMO II, Editorial Universitaria de Buenos Aires, Argentina, 1969.
- (27) ACADEMIA DEL ÁREA DE PLANTAS PILOTO DE ALIMENTOS (A.A.P.P.A.), “Introducción a la tecnología de alimentos: Manejo de mezclas de harinas en la elaboración de galletas”, Editorial Limusa, 2^o Edición, 2003. Extraído el 27 de febrero del 2010, desde:



<http://books.google.com/books?id=V2IqmVapJWkC&pg=PA127&lpg=PA127&dq=proceso+de+galleteria+%2B+cremado&source=bl&ots=S mEl8MzBZi&sig=2hZjv5c1femRQG-3mFUa8-SR8lc&hl=en&ei=JeubS4n9LMT48AaJy mIDg&sa=X&oi=book result &ct=result&resnum=10&ved=0CEQQ6AEwCQ#v=onepage&q=&f=false>

- (28) <http://www.scribd.com/doc/27308101/ANALISIS-DE-MICROORGANISMOS-AEROBIOS-MESOFILOS> (Extraído el 15 de abril del 2010)
- (29) Guía de interpretación de resultados de las Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Aerobios totales.
- (30) Guía de interpretación de resultados de las Placas PetrifilmTM para el Recuento de *E.coli*/Coliformes.
- (31) Guía de interpretación de resultados de las Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Mohos y levaduras.
- (32) KIRK, R.S., SAWYER, R., EGAN, H., “Composición y Análisis de los Alimentos de Pearson”, Compañía Editorial Continental, 2º edición en español, México, 2004.
- (33) http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/ManualdeFundamentosyTecnicasdeAnalisisdeAlimentos_6501.pdf (Extraído el 19 de marzo del 2010).
- (34) ASTUDILLO, Adelina, “Texto de Prácticas de Farmacognosia”, Cuenca-Ecuador, 2005.
- (35) SANCHO, J, BOTA, E., DE CASTRO J.J., “Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos”, Ediciones de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España, 2002.
- (36) BAUDI DERGAL, Salvador, “Química de los Alimentos”, Longman de México Editores S.A., 3º Edición, México, 1993.
- (37) ASTUDILLO, Adelina, “Texto de Microbiología e Higiene de los Alimentos: Manual de Prácticas”, Cuenca-Ecuador, 2007.
- (38) CORONEL, Rosa, SALAMEA, Monserrat, “Estudio sobre el valor nutritivo y posibles utilidades en la alimentación humana del *Amaranthus spp*”, Universidad de Cuenca, 1985.



- (39) ENCICLOPEDIA DE QUÍMICA; CLARK & HANLEY; Ediciones OMEGA, S.A.; Barcelona.
- (40) VALENCIA G, Francia E. Y ROMAN M, María O., “La fibra dietaria como alimento funcional”, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, año 2004, Volumen 11, número 2, págs. 12-17, ISSN 0121-4004.
- (41) R. JUAN, J. PASTOR, M. ALAIZ, C. MEGÍAS Y J. VIOQUE, Caracterización proteica de las semillas de once especies de amaranto. Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla, 41012-Sevilla. Instituto de la Grasa (C.S.I.C.), Padre García Tejero 4, 41012-Sevilla.
- (42) MACARULLA, José M., GOÑI, Félix M., “Bioquímica Humana”, Editorial REVERTÉ, S.A., España, 1985.
- (43) “Nutrición y macronutrientes”. Extraído el 12 de abril del 2010, desde: www.scribd.com/.../Nutricion-y-Macronutrientes-Set-2008
- (44) FAO, 2002, “Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo: Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas”. Extraído el 27 de febrero del 2010, desde: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0d.htm#bm13x>
- (45) FISHER, Patty, BENDER, Arnold, “Valor nutritivo de los Alimentos”, Editorial LIMUSA, México, 1976.
- (46) FAO, 2002, “Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo: Minerales. Extraído el 27 de febrero del 2010, desde: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0e.htm#bm14>
- (47) Norma oficial mexicana NOM-111-SSA1-1994, “Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos”.
- (48) AMÁRITA, Félix, “Detección de listeria y salmonella en alimentos: Metodologías actuales y tendencias futuras”, Unidad de Investigación Alimentaria, Sukarrieta (Vizcaya). Extraído el 15 de abril de 2010, desde: [http://docum.azti.es/AZTIIntranet/aztipub.nsf/vwIntranet/6DAFF16F5E3A4F91C12573F400424896/\\$File/deteccion-listeria.pdf?OpenElement](http://docum.azti.es/AZTIIntranet/aztipub.nsf/vwIntranet/6DAFF16F5E3A4F91C12573F400424896/$File/deteccion-listeria.pdf?OpenElement)
- (49) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, “Normas Sanitarias de Alimentos”, Tomo I, Diciembre de 1967.



- (50) AMOS, A.J., "Harina y Molinería: Manual de industrias de alimentos", Editorial ACRIBIA; Zaragoza (España), 1968.
- (51) KUKLINSKI, Claudia, "Farmacognosia". Ediciones OMEGA, S.A. Barcelona, 2000.
- (52) Norma Chilena NCh2313/15.cR2009, "Aguas residuales: Determinación de fósforo total".
- (53) Norma INEN 616: 98. Harina de trigo. Requisitos.
- (54) Norma INEN 2085:2005. Galletas. Requisitos.
- (55) Norma INEN 518. Harinas de origen vegetal. Determinación de la pérdida por calentamiento.
- (56) Norma INEN 521. Harinas de origen vegetal. Determinación de la acidez titulable.
- (57) Norma INEN 526. Harinas de origen vegetal. Determinación del potencial de hidrógeno.
- (58) Norma INEN 520. Harinas de origen vegetal. Determinación de cenizas.
- (59) Norma INEN 519. Harinas de origen vegetal. Determinación de proteínas.
- (60) Norma INEN 522. Harinas de origen vegetal. Determinación de fibra cruda.
- (61) Norma INEN 523. Harinas de origen vegetal. Determinación de lípidos totales



ANEXOS



ANEXO 1

REQUISITOS PARA LA HARINA DE TRIGO

HARINA DE TRIGO - REQUISITOS	NTE INEN 616:98
-------------------------------------	------------------------

Requisitos Generales:

- La harina de trigo debe presentar un color uniforme, variando del blanco al blanco-amarillento.
- La harina de trigo debe tener el olor y sabor característico del grano de trigo molido, sin indicios de rancidez o enmohecimiento.
- La harina de trigo presentará ausencia total de otro tipo de harina; la harina de trigo fortificada o enriquecida que se destina al consumo directo y al uso industrial principalmente para la elaboración de pan, pastas, fideos y galletas.
- No deberá contener insectos vivos ni sus formas intermedias de desarrollo.
- Debe estar libre de excretas animales.
- Cuando la harina de trigo sea sometida a un ensayo normalizado de tamizado, mínimo 95% deberá pasar por un tamiz INEN 210 μm (N° 70)

Requisitos físicos y químicos de la harina de trigo.

Tabla 2. Requisitos físicos y químicos de la harina de trigo.

Requisitos	Unidad	Harina panificable extra	Harina integral	Harinas especiales			Harinas para todo uso	Método de ensayo (INEN)
				Pastificio	Galletas	Autoleudante		
Humedad	%	M: 14.5	M: 15	M: 14.5	M: 14.5	M: 14.5	M: 14.5	518
Proteína (base seca)	%	m: 10	m: 11	m: 10	m: 9	m: 9	m: 9	519
Cenizas (base seca)	%	M: 0.75	M: 2.0	M: 0.8	M: 0.75	M: 3.5	M: 0.85	520
Acidez (exp. en ácido sulfúrico)	%	M: 0.1	M: 0.1	M: 0.1	M: 0.1	M: 0.1	M: 0.1	521
Glúten húmedo	%	m: 25	-	m: 23	m: 23	m: 23	m: 25	529

M: máximo, **m:** mínimo.

Requisitos Microbiológicos de la Harina de trigo.

**Tabla 3.** Requisitos microbiológicos.

Requisitos	Unidad	Límite máximo	Método de ensayo
Aerobios mesófilos	UFC/g	100.000	INEN 529.5
Coliformes	UFC/g	100	INEN 529.7
<i>E. coli</i>	UFC/g	0	INEN 529.8
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	0	INEN 529.15
Mohos y levaduras	UFC/g	500	INEN 529.10

Tabla 4. Requisitos microbiológicos de la harina (lotes o partidas).

Requisitos	Unidad	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios mesófilos	UFC/g	5	1	10^5	10^8	NTE INEN 1529-5
Coliformes	UFC/g	5	2	10^2	10^3	NTE INEN 1529-7
<i>E. coli</i>	UFC/g	5	2	0	0	NTE INEN 1529-8
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	5	0	0	0	NTE INEN 1529-15
Mohos y levaduras	UPC/g	5	2	5×10^2	10^3	NTE INEN 1529-10

En donde:

- n** número de muestras de lote que deben analizarse
- c** número de muestra defectuosas aceptables
- m** límite de aceptación
- M** límite de rechazo



ANEXO 2

REQUISITOS PARA LAS GALLETAS

GALLETAS - REQUISITOS	NTE INEN 2085:2005
-----------------------	--------------------

Galletas: Son productos obtenidos mediante el horneado apropiado de las figuras formadas por el amasado de los derivados del trigo u otras farináceas con otros ingredientes aptos para el consumo humano.

- **Galletas simples:** llevan el concepto anterior, sin ningún agregado posterior.
- **Galletas saladas:** tienen connotación salada.
- **Galletas dulces:** tienen connotación dulce.
- **Galletas wafer:** Producto obtenido a través del horneado de una masa líquida, adicionada un relleno para formar un sandwich.
- **Galletas con relleno:** adicionadas un relleno.
- **Galletas recubiertas:** exteriormente presentan un revestimiento.
- **Galletas bajas en calorías:** Producto definido en 1 al cual se le ha endurecido su contenido calórico por lo menos un 35%.
- **Leudantes:** son microorganismos, enzimas y sustancias químicas que acondicionan la masa para su horneado.

DISPOSICIONES GENERALES:

- ✓ Las galletas se deben elaborar en condiciones sanitarias apropiadas, observándose buenas prácticas de fabricación y a partir de materias primas sanas, limpias, exentas de impurezas y en perfecto estado de conservación.
- ✓ La harina de trigo empleada en la elaboración de galletas debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 616.
- ✓ A las galletas se les puede adicionar productos tales como: azúcares naturales, sal, productos lácteos y sus derivados, lecitina, huevos, frutas,



pasta o masa de cacao, grasa, aceites, levadura y cualquier otro ingrediente apto para consumo humano.

REQUISITOS:**a) REQUISITOS BROMATOLOGICOS****Tabla 1.** Requisitos bromatológicos para galletas.

Requisito	Mín.	Máx.	Método de ensayo
pH en solución acuosa al 10%.	5,5	9,5	INEN 526
Proteína % (%Nx5,7)	3,0	-	INEN 519
Humedad %	-	10,0	INEN 518

b) REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS**Tabla 2.** Requisitos microbiológicos para galletas simples.

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
R.E.P. (UFC/g)	3	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	1	INEN 1529-5
Mohos y levaduras (UPC/g)	3	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	1	INEN 1529-10

En donde:

- n** número de unidades de muestra
- m** nivel de aceptación
- M** nivel de rechazo
- c** número de unidades entre m y M

Aditivos: a las galletas se les puede adicionar aditivos tales como: saborizantes, emulsificantes, acentuadores de sabor, leudantes, humectantes, agentes de tratamiento de las harinas, antioxidantes y colorantes naturales en las cantidades permitidas de conformidad con la NTE INEN 2074 y en otras disposiciones legales vigentes.



ANEXO 3

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN PLACAS PETRIFILM DE AEROBIOS,

***E. coli* /COLIFORMES, MOHOS Y LEVADURAS:**

MATERIALES Y EQUIPOS:

- Lámpara de alcohol
- Licuadora
- Balanza de sensibilidad de 0.1g
- Pipetas serológicas estériles de 1 y 5 ml.
- Cajas petri estériles (para pesar la muestra)
- Cuchillo y espátula estériles.
- Placas Petrifilm® para aerobios mesófilos, *Escherichia coli* coliformes, mohos y levaduras.
- Láminas plásticas difusoras.
- Incubadora de $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ e incubadora a 22°C .

REACTIVOS:

- Alcohol etílico de 70%.
- Agua de peptona al 0.1%

PROCEDIMIENTO:

1. Desinfectar el área de trabajo con una solución de alcohol al 70%.
2. Pesar 25g del producto ensayado y colocarlo asépticamente al frasco homogenizador que contiene 225 ml de agua de peptona al 0.1%.
3. Homogenizar la muestra, la cual constituye la primera dilución de la muestra " 10^{-1} " a partir de la cual se proceden a realizar las distintas diluciones, y las siembras en las láminas Petrifilm.
4. De la dilución correspondiente tomar 1 ml y transferir a las láminas Petrifilm levantando la película plástica de la placa Petrifilm y cubrirla cuidadosamente.



5. Esparcir mediante el disco difusor correspondiente para cada tipo de lámina Petrifilm.
6. Incubar las láminas a 35°C por 24 horas para el caso de aerobios, coliformes/*E.coli*, mientras que para mohos y levaduras incubar a 22° C por 8 días
7. Contar las colonias y expresar como UFC/g de muestra
8. Trabajar con un control

Figura 76. Flujograma de procedimiento de análisis microbiológico.

HOMOGENIZADO, DILUCIONES Y SIEMBRA

MUESTRA



Pesar 25g en
caja petri estéril

25g de muestra + 225 ml AP 0.1%

1 ml 1 ml

10^{-1}

9ml AP 0.1% 9ml AP 0.1%
 10^{-2} 10^{-3}

CONTROL

1 ml

AC EC YM

Incubar a 37°C por 24 horas Incubar a 22° C por 8 días Incubar a 37° C por 24 horas

Contar las colonias

CALCULOS:

Para la cuantificación de los microorganismos: Aerobios mesófilos, *E. coli*/coliformes y Mohos y levaduras en las placas Petrifilm, se aplica la técnica del recuento estándar en placa, para ello:



1. Considerar las placas que presenten entre 15 a 300 colonias.
2. Separar las placas de acuerdo a las diluciones.
3. Contar las UFC y anotar los datos.
4. Aplicar la siguiente fórmula para el R.E.P

N = Número total de colonias contadas o calculadas

Cantidad total de muestra sembrada

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

En donde:

$\sum C$ = Suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas.

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada.

n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada.

d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos.

V = volumen del inóculo sembrado en cada placa.

Ejemplo de cálculo: recuento de aerobios mesófilos en harina tostada de amaranto.

Datos:

$$\sum C = 1251 \text{ colonias}$$

$$n_1 = 1$$

$$n_2 = 4$$

$$d = 10^{-1}$$

$$V = 1 \text{ ml}$$

$$N = \frac{300 + 140 + 76 + 300 + 240 + 44 + 39 + 47 + 65}{1(1 + 0.1 \times 4)10^{-1}}$$

$$N = \frac{1251}{0.14} = 8935,7 = 8,9 \times 10^3 \text{ UFC/g}$$



ANEXO 4

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA SALMONELLA

MATERIALES Y EQUIPOS:

- Dispositivo REVEAL para análisis de Salmonella.
- Incubadora de $36\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Baño María a $42\pm 1^{\circ}\text{C}$.

REACTIVOS:

- Agua de peptona al 0.1%
- Agua destilada esterilizada.
- Caldo de tetrionato
- Caldo de selenito – cistina

PROCEDIMIENTO:

a) Enriquecimiento no selectivo:

1. Pesar 25g de muestra en condiciones asépticas.
2. Agregar 225 ml de agua de dilución.
3. Llevar al homogenizador por un minuto con intervalos, para evitar el sobre calentamiento de las hélices y perder microorganismos.
4. Incubar a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

b) Enriquecimiento selectivo:

1. Medir con una pipeta estéril 1 ml del homogenizado anterior y pasarlo a un tubo con 10 ml de caldo de tetrionato.
2. Medir 1 ml para pasarlo a un tubo con 10 ml de caldo selenito – cistina.
3. Incubar los tubos en baño de agua a 43°C por 18-24 horas.



c) Test Reveal para *Salmonella*

1. Colocar con la pipeta del kit 5 gotas de la muestra en el área circular del dispositivo del Test Reveal que debe estar a temperatura ambiente.
2. Observar los resultados luego de 15 minutos.

Interpretación de los resultados:

Una línea entre las zonas C y T en 15 minutos.....POSITIVO
Una línea en la zona C pero no en la T.....NEGATIVO
Sin línea en la zona C y con una línea en la zona T.....INVÁLIDO

ANEXO 5

DETERMINACIÓN DE LA PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO (INEN 518)

Esta norma se establece para determinar el contenido de humedad y otras materias volátiles en las harinas de origen vegetal

MATERIALES:

- Cápsulas de porcelana y espátulas.
- Desecador con cloruro de calcio u otro deshidratante adecuado.
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Balanza analítica, sensible al 0,1mg.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

La muestra para el ensayo deben estar acondicionadas en envases herméticos, limpios y secos, completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire. La cantidad de la muestra extraída dentro de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo. Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.



PROCEDIMIENTO:

1. Calentar la cápsula durante 30 minutos en la estufa a $130 \pm 3^\circ\text{C}$. Enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente y pesar.
2. Pesar con aproximación al 0,1mg, 2g de muestra preparada, transferirla a la cápsula y distribuirla uniformemente en su fondo.
3. Calentar la cápsula y su contenido durante 1 hora, en la estufa calentada a $130 \pm 3^\circ\text{C}$, sin tapa.
4. Colocar la tapa a la cápsula antes de sacarla y trasladarla al desecador, tan pronto haya alcanzado la temperatura ambiente, pesar.
5. Repetir las operaciones de calentamiento, enfriamiento y pesaje, hasta que la diferencia de masa entre los resultados de dos operaciones de pesaje sucesivas no exceda de 0,1mg.

CÁLCULOS:

La perdida por calentamiento en muestra se calcula mediante la ecuación

$$P_c = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Siendo:

P_c = perdida por calentamiento, porcentaje de masa.

m_1 = masa de la cápsula vacía con tapa, en g.

m_2 =masa de la cápsula y tapa, con muestra sin secar, en g.

m_3 =masa de la cápsula y tapa, con muestra seca, en g.

ANEXO 6

DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE (INEN 521)

OBJETO: Esta norma establece el método para determinar el contenido de acidez en las harinas de origen vegetal.

TERMINOLOGÍA:

Acidez titulable.- es la acidez de la harina de origen vegetal expresada convencionalmente como ácido sulfúrico y determinada mediante procedimientos normalizados.



RESUMEN: Se titula la acidez como una solución estandarizada de NaOH, usando fenolftaleína como indicador.

MATERIALES:

- Matraz erlenmeyer de 100 cc.
- Matraz erlenmeyer de 50 cc
- Pipetas de 5 y 10 cc
- Bureta de 25 cc, con divisiones de 0,05 cc o de 0,1 cc

REACTIVOS:

- Solución 0,02N de NaOH, debidamente estandarizado
- Solución indicadora de fenolftaleína. Disolver 0,1g de alcohol etílico de 60% v/v.
- Alcohol etílico de 90% (v/v) neutralizado.

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar, con aproximación de 0,1mg, 5g de muestra y transferir al matraz erlenmeyer de 100 cc.
2. Agregar lentamente 50 cc de alcohol de 90% (v/v) neutralizado, tapar el matraz erlenmeyer y agitar fuertemente.
3. Dejar en reposo durante 24horas, agitando de vez en cuando.
4. Tomar con la pipeta una alícuota de 10 cc del líquido claro sobrenadante y transferir al matraz erlenmeyer de 50 cc, agregar 2 cc de solución indicadora de fenolftaleína.
5. Agregar lentamente y con agitación la solución 0,02N de NaOH, hasta conseguir un color rosado que desaparece poco a poco.
6. Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 segundos.
7. Leer en la bureta el volumen de solución empleada, con aproximación a 0,05cc.



CÁLCULOS:

La acidez titulable en harinas de origen vegetal, en base seca, se calcula mediante la ecuación siguiente.

$$A = \frac{V \times N \times k \times \text{mEq H}_2\text{SO}_4 \times 100}{m} \times \frac{V_1}{V_2}$$

Siendo:

A: contenido de acidez en las harinas de origen vegetal, en porcentaje de masa de ácido sulfúrico.

V: volumen de la solución de NaOH empleado en la titulación, en cc.

N: normalidad de la solución de NaOH

k: constante del NaOH 0.02N.

mEq H₂SO₄ = 49/1000 = 0,049g

V₁: volumen de alcohol empleado, en cc

V₂: volumen de la alícuota tomada para la titulación, en cc

m: masa de la muestra, en g.

ANEXO 7

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DE ION HIDROGENO (pH) (INEN 526)

OBJETO: Esta norma establece el método para determinar la concentración del ion (pH) en las harinas de origen vegetal.

RESUMEN: Determinar la concentración del ion hidrógeno (pH) utilizando el potenciómetro

MATERIAL:

- Potenciómetro, con electrodos de vidrio
- Vasos de precipitación de 250 cc
- Piceta

REACTIVOS:

Autoras: Sandra Fajardo y Priscila Criollo



Solución estándar de valores de pH conocidos entre 4,5 y 7.

PROCEDIMIENTO:

1. Comprobar el correcto funcionamiento del potenciómetro
2. Pesar con aproximación al 0,1mg, 10g de muestra preparada y colocar en el vaso de precipitación, añadir 100 cc de agua destilada, recientemente hervida y enfriada, y agitar suavemente hasta que las partículas queden uniformemente suspendidas.
3. Continuar la agitación durante 30 minutos a 25°C de modo que las partículas de almidón se mantengan en suspensión, y dejar en reposo para que el líquido decante.
4. Determinar el pH por lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación de la muestra, cuidando que estos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas.

ANEXO 8

DETERMINACIÓN DE PROTEINAS (INEN 519)

OBJETO: Esta norma establece el método para determinar el contenido de proteínas en las harinas de origen vegetal.

TERMINOLOGÍA:

Proteínas.- es la cantidad de nitrógeno total, expresado convencionalmente como contenido de proteína y determinado mediante procedimientos normalizados.

RESUMEN: Se determina el contenido de proteína en harinas de origen vegetal mediante el método Kjendahl y se multiplica el resultado por un factor para expresarlo como proteína.



MATERIALES:

- Matraz Kjendahl de 650 a 800 cc.
- Cocineta.
- Aparato de destilación.
- Matraz erlenmeyer, de 500 cc.
- Bureta de 50 cc.
- Probetas de 50 y 200 cc.
- Balanza analítica, sensible al 0,1mg.

REACTIVOS:

- H₂SO₄ concentrado (comercial), con densidad 1,84g/cm³a 20°C.
- Solución 0,1N de H₂SO₄, debidamente estandarizada
- Solución concentrada de NaOH (comercial). Disolver 450g de NaOH sólido en agua destilada y diluir la solución hasta 1000cc.
- Solución 0,1N de NaOH, debidamente estandarizado
- Catalizador (Sulfato de sodio, sulfato de cobre, selenio en polvo).
- Solución alcohólica de rojo de metilo. Disolver 1g de rojo de metilo en 200 cc de alcohol etílico al 95% v/v.

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar con aproximación al 0,1mg de 0,7 a 2,2g de la muestra y transferir al matraz Kjendahl.
2. Agregar 15g de la mezcla catalizadora y 25 cc de ácido sulfúrico concentrado.
3. Agitar cuidadosamente el matraz y colocar en la hornilla del aparato Kjendahl. Calentar suavemente hasta que no se observe formación de espuma y luego aumentar el calentamiento, rotando el matraz frecuentemente durante la digestión, hasta que el contenido del matraz se presente cristalino e incoloro, continuar el calentamiento durante 2 horas y dejar enfriar.
4. Agregar aproximadamente 200 cc de agua destilada, enfriar la mezcla hasta una temperatura inferior a 25°C.



5. Inclinar el matraz con su contenido y verter cuidadosamente por sus paredes, para que se formen dos capas, 50 cc de la solución concentrada de NaOH (se titula 0.5 cc de H₂SO₄ concentrado con NaOH concentrado en presencia de fenolftaleína hasta viraje, y se hace una regla de tres para hallar el volumen de NaOH necesario para 25 cc de H₂SO₄ concentrado).
6. Conectar el matraz Kjeldahl al condensador mediante la ampolla de destilación. El extremo de salida del condensador debe sumergirse en 50 cc de la solución 0,1N de H₂SO₄ contenido en el matraz erlenmeyer de 500 cc, a la que se le ha agregado unas gotas de la solución alcohólica de rojo de metilo.
7. Agitar el matraz Kjeldahl hasta mezclar completamente su contenido y calentar.
8. Destilar hasta que todo el amoníaco haya pasado a la solución ácida contenida en el matraz erlenmeyer, lo que se logra después de destilar por lo menos 150 cc
9. Antes de retirar el matraz erlenmeyer, lavar con agua destilada el extremo del condensador y titular el exceso de ácido contenido en el matraz erlenmeyer con solución 0,1 N de NaOH.
10. Realizar un solo ensayo en blanco con todos los reactivos, sin la muestra y siguiendo el mismo procedimiento descrito.

CÁLCULOS:

El contenido de proteína en muestras de harina de origen vegetal, en base seca, se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$P = (1,40) (F) \frac{(V_1 N_1 k_1 - V_2 N_2 k_2) - (V_3 N_1 k_1 - V_4 N_2 k_2)}{m}$$

Siendo:

P: contenido de proteínas en la muestra, en porcentaje de masa.

V₁: volumen de la solución 0,1N de H₂SO₄, empleado para recoger el destilado de la muestra, en cc.

N₁: normalidad de la solución de H₂SO₄.



k_1 : constante del H_2SO_4 0.1N

V_2 : volumen de la solución 0,1N de NaOH, empleado en la titulación, en cc.

N_2 : normalidad de la solución de NaOH

K_2 : constante del NaOH 0.1N

V_3 : volumen de la solución 0,1N de H_2SO_4 empleado para recoger el destilado del ensayo en blanco, en cc.

V_4 : volumen de la solución 0,1N de NaOH empleada en la titulación del ensayo en blanco, en cc.

m: masa de la muestra, en g.

F: factor para convertir el contenido de nitrógeno a proteínas, cuyo valor para cada harina se indica en la siguiente tabla:

ANEXO 9

DETERMINACIÓN DE GRASA (INEN 523)

OBJETO: Esta norma establece el método para determinar el contenido de grasa o extracto etéreo en harinas de origen vegetal

RESUMEN: El contenido de materia grasa es extraído de una muestra de harina de origen vegetal mediante un solvente orgánico

MATERIALES:

- Estufa, con regulador de temperatura, ajustado a $100 \pm 5^\circ C$
- Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado
- Aparato de extracción, tipo Soxhlet u otro similar
- Plancha eléctrica de calentamiento
- Dedal de Soxhlet u otro similar
- Espátula de acero inoxidable.
- Balanza analítica, sensible al 0,1mg.
- Papel filtro.



REACTIVOS:

Éter de petróleo (1 l = 0.645 kg; 40 - 60 °C)

PROCEDIMIENTO:

1. Lavar el balón del aparato Soxhlet y secarlo en la estufa calentada a $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$, por una hora. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0,1mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente
2. Pesar la muestra en papel filtro, colocarla sobre una caja petri y llevarla a la estufa a una temperatura de 105°C por 2 horas hasta que pierda la humedad.
3. Hacer un cartucho con el papel filtro que contiene la muestra y colocar en el dedal de Soxhlet.
4. Colocar el dedal y su contenido en el aparato Soxhlet, agregar suficiente cantidad de éter de petróleo (colocar el solvente en el extractor hasta que sifonee y nuevamente colocar hasta la mitad del extractor) y extraer durante 4 horas (cuando la velocidad de condensación es de 5 a 6 gotas por segundo). Terminada la extracción recuperar el disolvente por destilación en el mismo aparato y eliminar los restos de disolvente en baño maría.
5. Colocar el balón que contiene la grasa, durante 30 minutos, en la estufa calentada a $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$, enfriar hasta temperatura ambiente en el desecador y pesar.
6. Repetir el calentamiento por periodos de 30 minutos, enfriando y pesando, hasta que la diferencia entre los resultados de dos operaciones de pesaje sucesivas no exceda de 0,2 mg.

CÁLCULOS:

El contenido de grasa en la muestra, en porcentaje de masa sobre base seca, se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$G = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$



Siendo:

G: contenido de grasa en muestra, en porcentaje de masa.

m: masa de la muestra, en g.

m_1 : masa del balón vacío, en g.

m_2 : masa del balón con grasa, en g

ANEXO 10

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA (LEES, R).

OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el contenido de fibra cruda en harinas de origen vegetal.

TERMINOLOGÍA

Fibra cruda.- es el residuo insoluble obtenido después del tratamiento de la muestra de harina de origen vegetal y determinada mediante procedimientos normalizados.

RESUMEN

Digerir la muestra sin grasa con solución de ácido sulfúrico, lavar y nuevamente digerir con solución de NaOH, lavar, secar y pesar. Calcinar hasta destrucción de la materia orgánica.

MATERIALES:

- Vasos de precipitación
- Lunas de reloj
- Varilla
- Cocineta
- Tela lienzo
- Embudo Buchner
- Bomba de vacío
- Crisoles



- Espátula
- Estufa con regulador de temperatura, ajustada a $130 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Desecador con sulfato de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado
- Balanza analítica, sensible al 0,1mg

REACTIVOS:

- Solución 0,225N de H_2SO_4 .
- Solución 0,313N de NaOH.
- Agua destilada

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar la muestra desengrasada y seca, y añadirla a 200 cc de ácido sulfúrico 0.255 N contenidos en un vaso de precipitación de 400 ml de capacidad. Es esencial agitar para desintegrar los grumos que puedan existir.
2. Cubrir el vaso de precipitación con la luna de reloj y hervir durante treinta minutos. Reponer con agua destilada las pérdidas de volumen que se produzcan durante la ebullición.
3. Filtrar la solución caliente a través de tela de lienzo, lavando perfectamente el residuo con agua destilada.
4. Arrastrar el residuo al vaso de precipitación con ayuda de un total de 100 cc de agua destilada caliente. Anadir 200 ml de solución de hidróxido sódico 0.313 N. Hervir durante treinta minutos reponiendo las pérdidas de volumen con agua destilada.
5. Filtrar el líquido a través de la tela lienzo. Lavar hacia la tela de lienzo los restos que queden adheridos a las paredes de vaso de precipitación usando agua destilada caliente. Lavar con agua destilada hasta que el líquido de los lavados no dé reacción alcalina con papel indicador.
6. Dejar drenar, transferir a un crisol, desecar a 105°C durante tres horas y pesar. Volver a desecar durante quince minutos y pesar de nuevo para comprobar si el peso es constante.



CÁLCULOS:

El contenido de fibra cruda en muestra de harina de origen vegetal se calcula por la siguiente ecuación

$$f_c = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100$$

Siendo:

f_c : contenido de fibra cruda, en porcentaje de masa

m : masa de muestra, en g.

m_1 : masa de crisol vacío, en g.

m_2 : masa de crisol conteniendo fibra seca, en g.

ANEXO 11

DETERMINACIÓN DE CENIZA (INEN 520)

OBJETO: Esta norma establece el método para determinar el contenido de cenizas en las harinas de origen vegetal.

TERMINOLOGÍA:

Cenizas.- es el residuo obtenido después de incinerar la muestra, dentro de las condiciones descritas en la presente norma.

RESUMEN: Incinerar la muestra a $550 \pm 15^\circ\text{C}$ y pesar el residuo que corresponde a las cenizas en las harinas de origen vegetal.

MATERIALES:

- Crisol de porcelana o de otro material inalterable a esas condiciones de ensayo.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustado a $550 \pm 15^\circ\text{C}$
- Desecador, con cloruro de calcio u otro deshidratante adecuado.
- Pinza, para cápsula.
- Balanza analítica, sensible a 0,1mg



PROCEDIMIENTO:

1. Calentar el crisol de porcelana vacío en la mufla ajustada a $550 \pm 15^\circ\text{C}$, durante 30min. Enfriar en el desecador y pesar con aproximación de 0,1mg.
2. Transferir el crisol y pesar, con aproximación al 0,1mg, 5g de la muestra.
3. Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerla allí durante pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material, lo que podría ocurrir si el crisol se introduce directamente a la mufla.
4. Introducir el crisol en la mufla a $550 \pm 15^\circ\text{C}$ hasta obtener cenizas de un color gris claro.
5. Sacar de la mufla el crisol con la muestra, dejar enfriar en el desecador y pesar tan pronto haya alcanzado la temperatura ambiente, con aproximación al 0,1mg.
6. Repetir la incineración por periodos de 30 minutos, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

CÁLCULOS:

El contenido de cenizas en las muestras, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$C = \frac{100 (m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} .$$

Siendo:

C: contenido de cenizas en harinas de origen vegetal, en porcentaje de masa.

m_1 : masa de crisol vacío, en g.

m_2 : masa de crisol con la muestra, en g.

m_3 : masa de crisol con las cenizas, en g.



ANEXO 12

DETERMINACIÓN DE CALCIO POR ABSORCIÓN ATÓMICA

MATERIALES:

- Balones de aforo de 250, 500ml
- Embudo
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Espectrofotómetro de absorción atómica a 422,7nm

REACTIVOS:

- HCl concentrado
- CaCO_3 p.a.
- Cloruro de lantano: (solución ácida al 26.5% p/v $\text{Cl}_3\text{La} \cdot \text{H}_2\text{O}$) solución 100.000ppm de lantano

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar 10g de muestra (previamente triturada) en una cápsula de porcelana, sometemos a calcinación en una mufla a 550°C hasta obtener cenizas blancas o ligeramente grises
2. Al residuo de las cenizas adicionar 5 cc de HCl concentrado p.a. calentamos por 5 minutos, filtrar y aforar a 250 cc, con agua destilada (solución de cenizas)
3. Se toma 5 cc y luego se añade 5 cc de solución de LaCl_3 y leemos por absorción atómica frente a blanco de reactivos



CURVA DE CALIBRACION PARA EL CALCIO

Preparación de patrones:

Preparación de una solución madre de Ca de 1000 ppm: se pesa 1,2626g de CaCO_3 previamente desecado a 100°C por una hora, se añade agua destilada y unas gotas de HCl concentrado, hasta disolución completa del CaCO_3 y luego se afora en un balón de 500 cc.

CaCO_3	Ca
100g	40g
$x=1,25\text{g/l}$	0,5g

El CaCO_3 tiene una riqueza de 99%, por lo tanto:

$$1,25\text{g/l} \times \frac{100}{99} = 1,2626\text{g}$$

Preparación de soluciones patrón: se realizan los cálculos para tomar las alícuotas de la solución madre de acuerdo a las concentraciones de los patrones, y se aforan a 100 cc.

Concentración de los patrones (ppm)	Solución madre 1000 ppm (cc)	Volumen de aforo (cc)
100	10	100
200	20	100
300	30	100
400	40	100

De cada patrón preparado se toman 5 cc y se añade 5 cc de cloruro de lantano, se agita y se lee a 422,7 nm en el espectrofotómetro de absorción atómica.

DETERMINACIÓN DE CALCIO EN LAS MUESTRAS

La cuantificación del calcio se realizó por replicado con una curva de calibración por cada análisis, obteniendo concentraciones de acuerdo a cada curva de calibración, y para los resultados finales se consideran la media.

PRIMERA CURVA DE CALIBRACIÓN

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
100	0.4
200	0.62
300	0.73
400	0.84

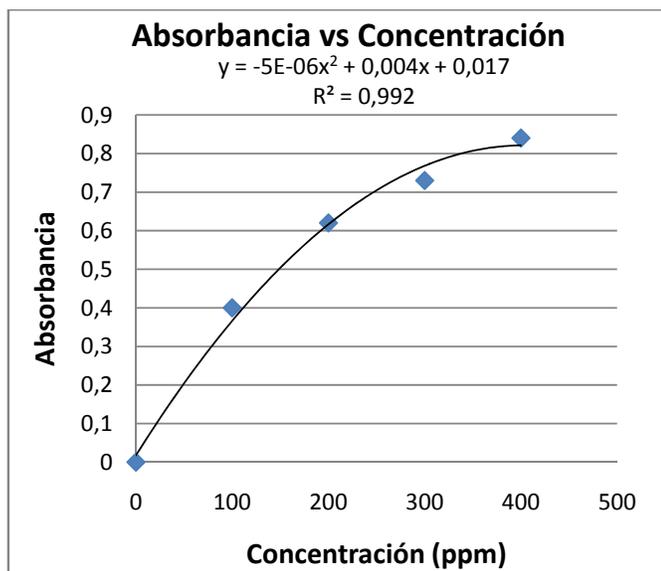


Figura 78. Curva de calibración del calcio (primer ensayo)

Cuadro 40. mg Calcio/100g de muestra a partir de la curva de calibración del calcio usando datos del primer ensayo.

MUESTRA	ABSORBANCIA	CONCENTRACIONES (ppm)	mg calcio/100 g de muestra	mg calcio/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,59	128,1	639,08	634,35
Galleta 1	0,06	13,06	65,32	64,84
Galleta 2	0,15	31,26	156,15	154,99
Galleta 3	0,18	38,16	190,8	189,39
Galleta 4	0,20	42,7	212,78	211,21
Galleta 5	0,23	49,44	247,15	245,32



CÁLCULOS (Empleando la primera curva de calibración)

Ejemplo: Harina integral de amaranto tostado

La lectura de esta muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica dio una lectura de 0,59, que en la curva de calibración corresponde a 128,1ppm

$$\begin{array}{r} 128,1\text{mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ 10 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad x=1,281\text{mg}$$

Estos 1,281mg están contenidos en los 5 cc que tomamos de la solución de cenizas de acuerdo a la técnica y para referirnos a 250 cc que es el volumen al cual se aforó las cenizas, se procede:

$$\begin{array}{r} 1,281\text{mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 5 \text{ cc} \\ 250 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad x=64,05\text{mg}/250 \text{ cc}$$

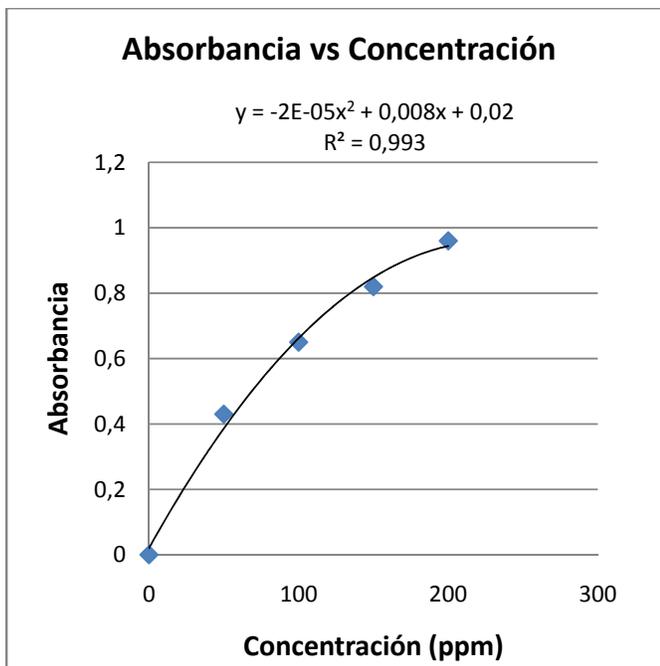
Estos 64,05 mg están contenidos en los gramos de muestra que pesamos (10,0221g), pero hay que hacer el cálculo en 100g de muestra para expresar en porcentaje, por lo que:

$$\begin{array}{r} 64,05\text{mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 10.0221\text{g de muestra} \\ 100\text{g de muestra} \\ \hline \end{array} \quad x=639,08\text{mg}/100\text{g de muestra}$$

SEGUNDA CURVA DE CALIBRACIÓN

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
50	0.43
100	0.65
150	0.82
200	0.96


Figura 79. Curva de calibración del calcio (segundo ensayo)

Cuadro 41. mg Calcio/100g de muestra a partir de la curva de calibración del calcio usando datos del segundo ensayo.

MUESTRA	ABSORBANCIA	CONCENTRACIONES (ppm)	mg calcio/100 g de muestra	mg calcio/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,6	61,45	613,55	609,75
Harina de trigo 1	0,07	5,95	59,42	59,05
Harina de trigo 2	0,07	5,95	59,41	59,04
Galleta 1	0,08	7,13	71,28	70,84
Galleta 2	0,19	19,72	196,87	195,65
Galleta 3	0,22	23,04	230,02	228,59
Galleta 4	0,23	24,13	241,23	239,73
Galleta 5	0,25	26,3	262,89	261,26



CALCULOS (Empleando la segunda curva de calibración)

Ejemplo: Harina integral de amaranto tostado

La lectura de esta muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica dio una lectura de 0,60, que en la curva de calibración corresponde a 61,45 ppm

$$\begin{array}{r} 61,45\text{mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ 6 \text{ cc} \\ \hline \end{array}$$

$x=0,368 \text{ mg}$

Estos 0,368mg están contenidos en los 3 cc que tomamos de la solución de cenizas de acuerdo a la técnica y para referirnos a 250 cc que es el volumen al cual se aforo las cenizas, se procede:

$$\begin{array}{r} 0,368 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 3 \text{ cc} \\ 250 \text{ cc} \\ \hline \end{array}$$

$x=30,73\text{mg}/250 \text{ cc}$

Estos 30,73 mg están contenidos en los gramos de muestra que pesamos (5,0077g), pero hay que hacer el cálculo en 100g de muestra para expresar en porcentaje, por lo que:

$$\begin{array}{r} 30,73 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 5,0077\text{g de muestra} \\ 100\text{g de muestra} \\ \hline \end{array}$$

$x=613,55 \text{ mg}/100\text{g de muestra}$

Cuadro 42. Promedio de los mg Calcio/100g de muestra a partir de los análisis por replicado.

MUESTRA	mg Calcio/100g de muestra		Media
	REPLICA 1	REPLICA 2	
Harina integral de amaranto tostrado	634,35	609,75	622,05
Harina de trigo	59,05	59,04	59,05
Galleta 1	64,84	70,84	67,84
Galleta 2	154,99	195,65	175,32
Galleta 3	189,39	228,59	208,99
Galleta 4	211,21	239,73	225,47
Galleta 5	245,32	261,26	253,29



ANEXO 13

DETERMINACIÓN DE HIERRO POR FOTOCOLORIMETRIA

MATERIALES:

- Balón de aforo de 100 y 250, 1000 ml
- Pipetas de 1, 5, 10ml
- Espectrofotómetro a 520nm
- Potenciómetro
- Vasos de precipitación

REACTIVOS:

- Solución de Hidroxilamina al 10%: preparamos usando 10g y aforando a 100 cc en agua destilada
- Solución de ortofenantrolina: preparamos pesando 1,5g y aforando a 100 cc con alcohol de 95°
- Hierro metálico p.a.

PROCEDIMIENTO:

1. Preparamos la muestra como se indico para el calcio (solución de cenizas aforadas a 250 cc)
2. Tomamos 20 cc de la solución, ajustamos el pH a 2.9 con NH_4OH diluido, añadir 2 cc de clorhidrato de hidroxilamina al 10% y 2 cc de ortofenantrolina al 1,5%
3. Aforar con agua destilada a 100 cc y dejar en reposo por 20 minutos, tiempo en el cual el color anaranjado adquiere su mayor intensidad
4. Leer con filtro de 420nm, frente a blanco de reactivo, el color es estable durante 6 meses si se conserva en envases herméticos.



CURVA DE CALIBRACION DEL HIERRO

Preparación de patrones

Preparación de una solución madre de 500ppm: Pesamos exactamente 0.5025g de hierro metálico p.a. previamente desecado en estufa a 100°C por una hora, disolvemos con ayuda HCl concentrado y con calentamiento, aforamos a 1000 cc con agua destilada

El Fe tiene una riqueza de 99,5%, por lo tanto:

$$\text{Fe: } 0,5\text{g/l} \times \frac{100}{99,5} = 0,5025\text{g}$$

Preparación de la solución de trabajo: Se realizan los cálculos para tomar la alícuota de la solución madre de acuerdo a la concentración de la solución de trabajo y se afora a 100 cc.

Concentración de las soluciones de trabajo (ppm)	Solución madre (cc)	Volumen de aforo (cc)
20	4	100
50	10	100
100	20	100
200	40	100

Ejemplo: preparación de la solución de trabajo de 50 ppm.

$$\begin{array}{cc} 50 \text{ mg} & 1000 \text{ cc} \\ 5 \text{ mg} & 100 \text{ cc} \end{array} \qquad \begin{array}{cc} 500 \text{ mg} & 1000 \text{ cc} \\ 5 \text{ mg} & x=10 \text{ cc} \end{array}$$

Preparación de las soluciones patrón: de cada solución de trabajo preparado tomamos 1cc, se añade 2 cc de clorhidrato de hidroxilamina al 10% y 2 cc de ortofenantrolina al 1,5%, se afora a 100 cc y se lee 520nm.



Concentración de los patrones (ppm)	Soluciones de trabajo (cc)	Volumen de aforo (cc)
0,2	1	100
0,5	1	100
1	1	100
2	1	100

DETERMINACIÓN DE HIERRO EN LAS MUESTRAS

La cuantificación del hierro se realizó por replicado con una curva de calibración por análisis, obteniendo concentraciones de acuerdo a cada curva de calibración, y para los resultados finales se consideran la media.

PRIMERA CURVA DE CALIBRACIÓN

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
0.2	0.04
0.5	0.1
1	0.21
2	0.42

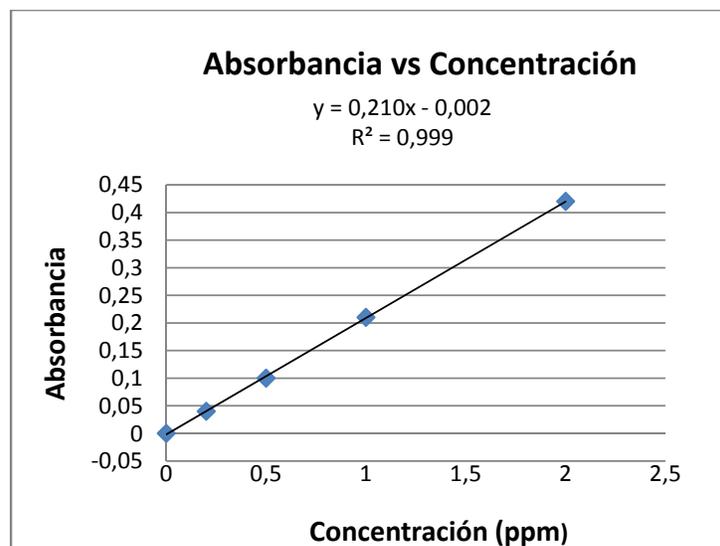


Figura 80. Curva de calibración del hierro (primer ensayo).

Cuadro 43. mg Hierro/100g de muestra a partir de la curva de calibración del hierro usando datos del primer ensayo.

MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACION	mg hierro/100 g de muestra	mg hierro/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,16	0,77	9,604	9,602



Galleta 1	0,03	0,152	1,9	1,9
Galleta 2	0,1	0,486	6,07	6,07
Galleta 3	0,11	0,533	6,66	6,66
Galleta 4	0,09	0,438	5,46	5,46
Galleta 5	0,08	0,39	4,87	4,87

CALCULOS (Empleando la primera curva de calibración).

Ejemplo: Harinaintegral de amaranto tostado

La muestra dió una lectura de 0,46, que en la curva de calibración corresponde a 2.2 ppm

$$\begin{array}{r} 2.2 \text{ mg} \\ \times \\ \hline 1000 \text{ cc} \\ 100 \text{ cc} \\ \hline x=0,22 \text{ mg} \end{array}$$

Estos 0,22mg están contenidos en los 20 cc que tomamos de la solución de cenizas de acuerdo a la técnica y para referirnos a 250 cc que es el volumen al cual se aforó las cenizas, se procede:

$$\begin{array}{r} 0,22 \text{ mg} \\ \times \\ \hline 20 \text{ cc} \\ 250 \text{ cc} \\ \hline x=2,75 \text{ mg}/250 \text{ cc} \end{array}$$

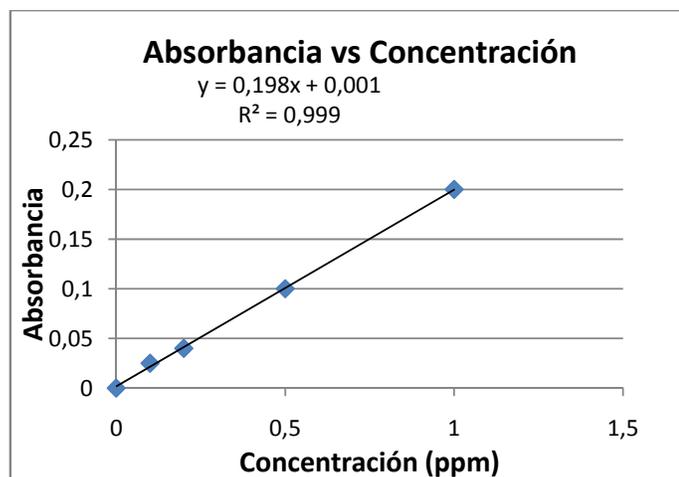
Estos 2,75 mg están contenidos en los gramos de muestra que pesamos (10,0221g), pero hay que hacer el cálculo en 100g de muestra para expresar en porcentaje, por lo que:

$$\begin{array}{r} 2,75 \text{ mg} \\ \times \\ \hline 10,0221 \text{ g de muestra} \\ 100 \text{ g de muestra} \\ \hline x=27,43 \text{ mg}/100 \text{ g de muestra} \end{array}$$

SEGUNDA CURVA DE CALIBRACION DEL HIERRO

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
0,1	0,025
0,2	0,04
0,5	0,1
1	0,2


Figura 81. Curva de calibración del hierro (segundo ensayo).

Cuadro 44. mg Hierro/100g de muestra a partir de la curva de calibración del hierro usando datos del segundo ensayo.

MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACION	mg Hierro/100 g de muestra	mg Hierro/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,09	0,449	11,21	11,20
Harina de trigo 1	0,018	0,086	2,15	2,15
Harina de trigo 2	0,016	0,076	1,9	1,9
Galleta 1	0,02	0,096	2,4	2,4
Galleta 2	0,06	0,298	7,44	7,43
Galleta 3	0,06	0,298	7,44	7,43
Galleta 4	0,05	0,247	6,17	6,17
Galleta 5	0,04	0,197	4,92	4,92

**CALCULOS** (Empleando la segunda curva de calibración)**Ejemplo:** Harina integral de amaranto tostado.

La muestra dio una lectura de 0,09, que en la curva de calibración corresponde a 0,449 ppm

$$\begin{array}{r} 0,449 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ 100 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} x=0,0449 \text{ mg}/100 \text{ cc} \end{array}$$

Estos 0,0449 mg están contenidos en los 20 cc que tomamos de la solución de cenizas de acuerdo a la técnica y para referirnos a 250 cc que es el volumen al cual se aforó las cenizas, se procede:

$$\begin{array}{r} 0,0449 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 20 \text{ cc} \\ 250 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} x=0,561 \text{ mg}/250 \text{ cc} \end{array}$$

Estos 0,561mg están contenidos en los gramos de muestra que pesamos (5,0077g), pero hay que hacer el cálculo en 100g de muestra para expresar en porcentaje, por lo que:

$$\begin{array}{r} 0,561 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 5,0077\text{g de muestra} \\ 100\text{g de muestra} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} x=11,21 \text{ mg}/100\text{g de muestra} \end{array}$$

Cuadro 45. Promedio de los mg Hierro/100g de muestra a partir de los análisis por replicado.

MUESTRA	mgde hierro/100g de muestra		Media
	REPLICA 1	REPLICA 2	
Harina integral de amaranto tostado	9,602	11,20	10,40
Harina de trigo	2,15	1,9	2,03
Galleta 1	1,9	2,4	2,15
Galleta 2	6,07	7,43	6,75
Galleta 3	6,66	7,43	7,05
Galleta 4	5,46	6,17	5,82
Galleta 5	4,87	4,92	4,9



ANEXO 14

DETERMINACION DE FÓSFORO POR ESPECTROFOTOMETRIA

MATERIALES:

- Balones de aforo de 100, 250 y 500ml
- Pipetas de 1,5,10ml
- Espectrofotómetro a 400 nm

REACTIVOS:

- Solución de molibdovanadato: para ello disolver 40g de molibdato de amonio tetrahidratado en 400 cc de agua destilada caliente y luego enfriar. Disolver 2g de metavanadato de amonio en 250 cc de agua destilada caliente y enfriar, añadir 450 cc de ácido perclórico al 70%. Gradualmente añadir la solución de molibdato de amonio a la solución de metavanadato de amonio, agitando lentamente y diluir a 2000 cc con agua destilada.
- Fosfato monobásico de potasio: K_2HPO_4 p.a.

PROCEDIMIENTO:

1. Preparamos la muestra como se indicó para el calcio (solución de cenizas aforadas a 250 cc)
2. Tomar de esta 10 cc y añadir agua hasta 50 cc.
3. Adicionar 20 cc de solución de molibdovanadato y aforar a 100 cc.
4. Leer a 400 nm frente a blanco de reactivos.

CURVA DE CALIBRACIÓN DEL FÓSFORO

Preparación de soluciones patrón

Preparación de la solución madre 500 ppm: se pesa 1,10g de K_2HPO_4 p.a. previamente desecado a 100°C por una hora, se añade agua destilada, se disuelve y luego se afora en un balón de 500 cc.



$$\begin{array}{r} \mathbf{K H_2 PO_4} \\ 136,09\text{g} \\ x \\ \mathbf{P} \\ 30,97\text{g} \\ 0,5\text{g} \\ x = 2,19\text{g} \end{array}$$

El $K H_2 PO_4$ tiene una riqueza de 99,5%, por lo tanto:

$$2,19\text{g/l} \times \frac{100}{99,5} = 2,21\text{g/l} = 1,10\text{g}/500\text{cc}$$

Preparación de la solución de trabajo de 50 ppm: Se realizan los cálculos para tomar la alícuota de la solución madre de acuerdo a la concentración de la solución de trabajo y se afora a 100 cc.

$$\begin{array}{r} 50\text{mg} \\ 5\text{mg} \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ 100 \text{ cc} \end{array} \quad \begin{array}{r} 500 \text{ mg} \\ 5 \text{ mg} \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ x=10 \text{ cc} \end{array}$$

Preparación de soluciones patrón: se realizan los cálculos para tomar las alícuotas de la solución de trabajo de acuerdo a las concentraciones de los patrones, se añade 20 cc de la solución de molibdovanadato, se afora a 100 cc, y se lee a 400 nm.

Concentración de los patrones (ppm)	Solución de trabajo 50ppm (cc)	Volumen de aforo (cc)
1	2	100
2	4	100
5	10	100
10	20	100

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO EN LAS MUESTRAS

La cuantificación del fósforo se realizó por replicado con una curva de calibración por cada análisis, obteniendo concentraciones de acuerdo a cada curva de calibración, y para los resultados finales se consideran la media.

PRIMERA CURVA DE CALIBRACIÓN

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
1	0,13
2	0,28
5	0,73

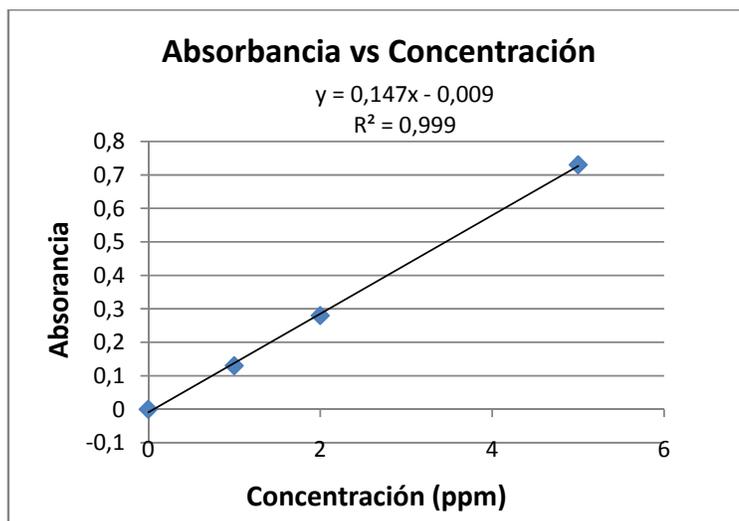


Figura 82. Curva de calibración del fósforo (primer ensayo)

Cuadro 46. mg Fósforo/100g de muestra a partir de la curva de calibración del fósforo usando datos del primer ensayo.

MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACION	mg fósforo/100 g de muestra	mg fósforo/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,89	6,116	610,25	609,88
Galleta 1	0,44	3,054	152,76	152,67
Galleta 2	0,63	4,347	217,15	217,02
Galleta 3	0,71	4,891	244,5	244,35
Galleta 4	0,78	5,367	267,45	267,29
Galleta 5	0,77	5,30	264,95	264,79



CALCULOS (Empleando la primera curva de calibración)

Ejemplo: Harina integral de amaranto tostado.

La muestra dio una lectura de 0,89, que en la curva de calibración corresponde a 6,116 ppm

$$\begin{array}{r} 6,116 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 1000 \text{ cc} \\ 100 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ x=0,6116 \text{ mg} \end{array}$$

Estos 0,6116 mg están contenidos en los 5 cc que tomamos de la solución de cenizas de acuerdo a la técnica y para referirnos a 250 cc que es el volumen al cual se aforó las cenizas, se procede:

$$\begin{array}{r} 0,6116 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 5 \text{ cc} \\ 250 \text{ cc} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ x= 30,58 \text{ mg}/250 \text{ cc} \end{array}$$

Estos 30,58 mg están contenidos en los gramos de muestra que pesamos (10,0221g), pero hay que hacer el cálculo en 100g de muestra para expresar en porcentaje, por lo que:

$$\begin{array}{r} 30,58 \text{ mg} \\ \times \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{r} 10,0221\text{g de muestra} \\ 100\text{g de muestra} \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} \\ \\ x=305,13 \text{ mg}/100\text{g de muestra} \end{array}$$

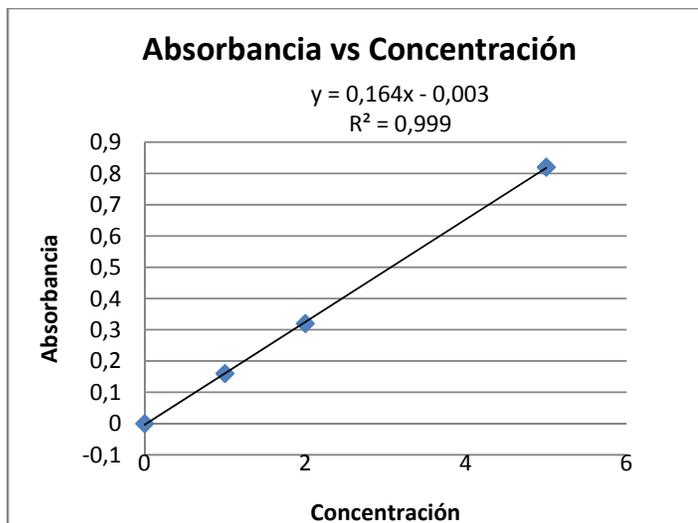
En el caso esta muestra (harina tostada de amaranto) hubo que realizar una dilución 1:2 para que el resultado entre en la curva de calibración, por lo tanto el resultado se multiplica por 2.

$$305,13 \text{ mg}/100\text{g} \times 2 = 610,25\text{mg de fósforo}/100\text{g de muestra}$$

SEGUNDA CURVA DE CALIBRACION DEL FÓSFORO

Datos:

Patrones (ppm)	Absorbancia
0	0
1	0.16
2	0.32
5	0.82


Figura 83. Curva de calibración del Fósforo (segundo ensayo)

Cuadro 47. mg Fósforo/100g de muestra a partir de la curva de calibración del hierro usando datos del segundo ensayo.

MUESTRAS	ABSORBANCIAS	CONCENTRACION (ppm)	mg fósforo/100 g de muestra	mg fósforo/100 g de muestra
Harina integral de amaranto tostado	0,96	5,865	585,1	585,04
Harina de trigo 1	0.31	1.909	95.33	95,32
Harina de trigo 2	0,35	2,152	107.44	107,43
Galleta 1	0,53	3,248	162,37	162,35
Galleta 2	0,72	4,404	219,84	219,82
Galleta 3	0,80	4,896	248,90	248,88
Galleta 4	0,88	5,378	268,83	268,80
Galleta 5	0,88	5,378	268,79	268,76



Cuadro 48. Promedio de los mg de Fósforo/100g de muestra a partir de los análisis por replicado.

MUESTRAS	mg Fósforo/100g de muestra	mg Fósforo/100g de muestra	Media
	REPLICA 1	REPLICA 2	
Harina integral de amaranto tostado	609,88	585,04	597,46
Harina de trigo	95,32	107,43	101,38
Galleta 1	152,67	162,35	157,51
Galleta 2	217,02	219,82	218,42
Galleta 3	244,35	248,88	246,62
Galleta 4	267,29	268,80	268,05
Galleta 5	264,79	268,76	266,78



ANEXO 15

DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

Procedimiento:

1. Se pesan 5g de la muestra previamente pulverizada y tamizada, se transfieren a un frasco cónico con tapa de 250 ml
2. Se añaden 100 ml de agua, metanol al 85%, etanol al 80%, etanol al 94%, acetato de etilo y éter de petróleo y se agita durante 6 horas, luego se deja en reposo hasta el día siguiente
3. Se agita 30 minutos y se filtra por papel.
4. Se toma una alícuota de 20 ml, se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada.
5. Se evapora sobre baño de agua, luego se deseca en estufa a 105°C, durante 3 horas, se enfría y se pesa.

Cálculos: el porcentaje (%) de sustancias solubles en base anhidra (Ss) se calcula por la siguiente fórmula:

$$Ss = \frac{R \times 500 \times 100}{M \times (100 - H)}$$

Donde: R: residuo de la muestra (g)
100 y 500: factores matemáticos para los cálculos
M: masa de la muestra (g)
H: humedad de la muestra (g)



ANEXO 16

CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-Va) **ABSORBANCIAS DE PATRONES DE QUERCETINA**

Patrones de quercetina	Concentración de quercetina (mg/ml)	Absorbancia 1 (nm)			Absorbancia 2 (nm)			Absorbancia 3 (nm)		
		A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
P1	0,0027	0,136	0,165	0,126	0,164	0,177	0,174	0,137	0,192	0,189
P2	0,004725	0,295	0,291	0,296	0,332	0,329	0,317	0,312	0,347	0,344
P3	0,00945	0,654	0,647	0,664	0,675	0,669	0,669	0,657	0,693	0,699
P4	0,0135	0,933	0,972	0,949	0,882	0,935	0,975	0,944	0,973	0,980
P5	0,0189	1,334	1,349	1,366	1,250	1,321	1,225	1,291	1,343	1,294

b) **CURVA DE CALIBRACIÓN**

Concentración de Patrones (mg/ml)	Absorbancia
0	0
0,0027	0,1622
0,004725	0,3181
0,00945	0,6696
0,0135	0,9503
0,0189	1,3081

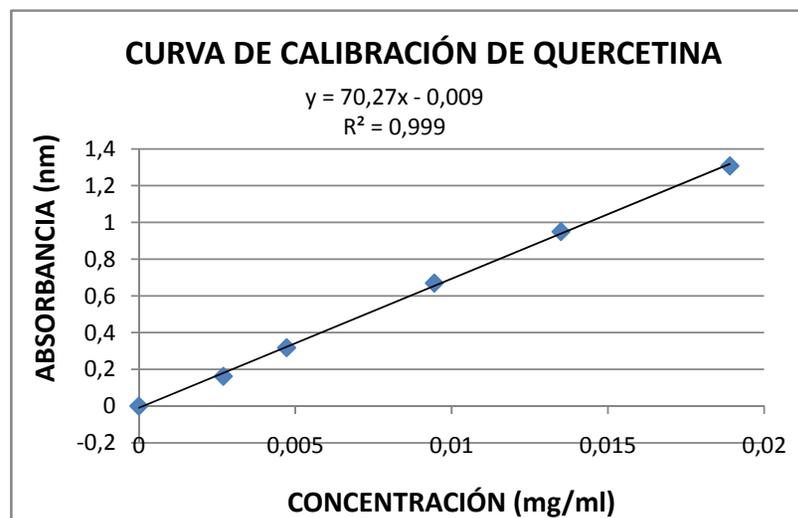


Figura 84. Curva de calibración de Flavonoides (quercetina)

**c) ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES**

Muestras	Absorbancia 1 (nm)			Absorbancia 2 (nm)			Absorbancia 3 (nm)		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
Inflorescencia 1	0,033	0,037	0,038	0,028	0,031	0,042	0,034	0,038	0,055
Inflorescencia 2	0,031	0,038	0,04	0,035	0,033	0,038	0,028	0,027	0,034
Harina de amaranto	0,04	0,008	0,005	0,007	0,01	0,009	0,003	0,007	0,003

ANEXO 17**DATOS DE LOS ANÁLISIS EFECTUADOS****a) ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO****HARINA INTEGRAL DE AMARANTO TOSTADO (HA)****AEROBIOS MESÓFILOS**

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HA 1	420	305	44
HA 2	300	140	12
HA 3	315	76	39
HA 4	480	300	47
HA 5	420	240	65

E.coli/COLIFORMES TOTALES

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HA 1	0	0	0
HA 2	0	0	0
HA 3	0	0	0
HA 4	0	0	0
HA 5	0	0	0

**MOHOS Y LEVADURAS**

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HA 1	14	9	1
HA 2	20	9	2
HA 3	18	8	0
HA 4	17	12	1
HA 5	20	8	1

HARINA DE TRIGO (HT)**AEROBIOS**

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HT 1	100	20	0
HT 2	80	10	0
HT 3	95	19	1

E.coli/COLIFORMES TOTALES

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HT 1	0	0	0
HT 2	0	0	0
HT 3	0	0	0

MOHOS Y LEVADURAS

MUESTRA	DILUCIONES		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
HT 1	50	9	2
HT 2	47	6	1
HT 3	51	7	1

GALLETAS**AEROBIOS**

GALLETAS	REPLICA	DILUCIONES		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	1	0
2	1	2	0	0
	2	1	0	0
	3	1	0	0



3	1	0	1	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
4	1	0	0	0
	2	1	0	1
	3	0	0	0
5	1	0	0	0
	2	1	0	0
	3	1	1	0

E.coli/COLIFORMES TOTALES

GALLETAS	REPLICA	DILUCIONES		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
2	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
3	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
4	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
5	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0

MOHOS Y LEVADURAS

GALLETAS	REPLICA	DILUCIONES		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
2	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
3	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
4	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
5	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0

**b) ANALISIS FISICO-QUÍMICO Y BROMATOLÓGICO****DETERMINACIÓN DE LA PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO****HUMEDAD EN HARINAS Y GALLETAS:**

MUESTRAS	REPLICA	m ₁ (masa de la cápsula vacía + tapa, en g)	m ₂ (masa de la cápsula + tapa + muestra sin secar, en g)	m ₃ (masa de la cápsula + tapa + muestra seca, en g)
Harina de trigo	1	157,1487	159,1487	158,8830
	2	47,2240	49,2443	48,9792
Harina integral de amaranto tostado	1	164,7219	166,7219	166,5318
	2	43,2833	45,2843	45,0912
Galleta 1	1	64,1049	66,1170	66,0873
	2	58,1039	60,1469	60,1061
Galleta 2	1	44,0221	46,0480	46,0057
	2	51,5424	53,5462	53,4939
Galleta 3	1	47,5579	49,5888	49,5428
	2	47,6443	49,6504	49,5966
Galleta 4	1	58,6917	60,7051	60,6287
	2	45,7988	47,8122	47,7312
Galleta 5	1	47,3137	49,3166	49,2215
	2	44,4532	46,4720	46,3665

DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE

k NaOH 0.02N= 0.95

Muestras	REPLICA	N	V	V ₁	V ₂	m
Harina de trigo	1	0.02 N	1 ml	50 ml	10 ml	5.0008
	2	0.02 N	0.9 ml	50 ml	10 ml	5.0016
Harina integral de amaranto tostado	A	0.02 N	1 ml	50 ml	10 ml	5.0017
	B	0.02 N	1.1 ml	50 ml	10 ml	5.0038

**DETERMINACIÓN DE PROTEINAS****Cálculo de los factores de proteína para cada tratamiento**

GALLETAS	CÁLCULO	NUEVOS FACTORES
Galleta 1 (100% de HT)	$(1 \times 5,7) + (0 \times 6,25)$	5,7
Galleta 2 (80% HT + 20% HA)	$(0,80 \times 5,7) + (0,20 \times 6,25)$	5,81
Galleta 3 (75% HT + 25% HA)	$(0,75 \times 5,7) + (0,25 \times 6,25)$	5,84
Galleta 4 (70% HT + 30% HA)	$(0,70 \times 5,7) + (0,30 \times 6,25)$	5,87
Galleta 5 (65% HT + 35% HA)	$(0,65 \times 5,7) + (0,35 \times 6,25)$	5,9
Factor para harina de trigo=5,7		
Factor para harina integral de amaranto tostado=6,25		

Primer ensayo:

$$k \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ 0.1 N} = 0.96$$

$$k \text{ NaOH 0.1 N} = 1$$

MUESTRAS	F	V₁	N₁	V₂	N₂	V₃	V₄	m
Harina integral de amaranto tostado	6.25	50 ml	0.1 N	21.6 ml	0.1 N	50 ml	48 ml	1.5074g
Galleta 1	5.7	50 ml	0.1 N	32.9 ml	0.1 N			1.5232g
Galleta 2	5.81	50 ml	0.1 N	30.6 ml	0.1 N			1.5396g
Galleta 3	5.84	50 ml	0.1 N	31.3 ml	0.1 N			1.5173g
Galleta 4	5.87	50 ml	0.1 N	31.4 ml	0.1 N			1.5176g
Galleta 5	5.9	50 ml	0.1 N	31.6 ml	0.1 N			1.5069g

Segundo ensayo:

$$k \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ 0.1 N} = 1.03$$

$$k \text{ NaOH 0.1 N} = 0.9$$

MUESTRAS	F	V₁	N₁	V₂	N₂	V₃	V₄	M
Harina integral de amaranto tostado	6.25	50 ml	0.1 N	21.6 ml	0.1 N	50 ml	51.05 ml	1.5003g
Harina de trigo 1	5.7	50 ml	0.1 N	26.05 ml	0.1 N			1.5003g
Harina de	5.7	50 ml	0.1 N	26.3 ml	0.1 N			1.5010g



trigo 2							
Galleta 1	5.7	50 ml	0.1 N	34.6 ml	0.1 N		1.5067g
Galleta 2	5.81	50 ml	0.1 N	32.25 ml	0.1 N		1.5064g
Galleta 3	5.84	50 ml	0.1 N	33.3 ml	0.1 N		1.5012g
Galleta 4	5.87	50 ml	0.1 N	33.25 ml	0.1 N		1.5022g
Galleta 5	5.9	50 ml	0.1 N	33.25 ml	0.1 N		1.5036g

DETERMINACIÓN DE GRASA

MUESTRA	REPLICA	m (masa muestra, en g)	m ₁ (masa balón vacío, en g)	m ₂ (masa balón con grasa, en g)
Harina integral de amaranto tostado	1	2.5040	100.1130	100.2763
	2	2.5020	100.1168	100.2754
Harina de trigo	1	2.5049	107.0079	107.0465
	2	2.5030	99.3945	99.4326
Galleta 1	1	2.5072	105.1870	105.7497
	2	2.5074	105.1100	105.7136
Galleta 2	1	2.5060	107.0160	107.5428
	2	2.5049	107.0042	107.5386
Galleta 3	1	2.5094	99.3941	100.1171
	2	2.5046	105.1790	105.7248
Galleta 4	1	2.5010	101.5651	102.1257
	2	2.5016	101.5685	102.0994
Galleta 5	1	2.5117	105.1136	105.6400
	2	2.5046	105.1142	105.6405

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

MUESTRAS	REPLICA	m (masa muestra, en g)	m ₁ (masa crisol vacío, en g)	m ₂ (masa crisol + fibra seca)
Harina integral de amaranto tostado	1	2.5040	48.9495	49.2380
	2	2.5020	33.2876	33.5643
Harina de trigo	1	2.5015	51.5442	51.5441
	2	2.5022	44.3402	44.3402
Galleta 1	1	2.5072	47.5565	47.5566
	2	2.5074	67.9737	67.9739
Galleta 2	1	2.5060	51.5434	51.5604
	2	2.5049	55.8034	55.8264
Galleta 3	1	2.5094	57.7327	57.7605



	2	2.5046	45.4160	45.4521
Galleta 4	1	2.5010	38.9266	38.9684
	2	2.5016	75.7098	75.7472
Galleta 5	1	2.5117	47.3140	47.3532
	2	2.5046	44.3417	44.3965

CÁLCULO DE HIDRATOS DE CARBONO

Muestras	% Grasa	% Proteína	% Humedad	% Cenizas	% Fibra cruda
Harina integral de amaranto tostado	6.429	15.392	9.577	4.196	11.29
Harina de trigo	1.531	11.905	13.203	0.579	0
Galleta 1	23.257	7.878	1.736	1.093	0.005
Galleta 2	21.177	9.166	2.348	1.491	0.798
Galleta 3	25.301	8.852	2.472	1.493	1.274
Galleta 4	21.818	8.878	3.88	1.613	1.583
Galleta 5	20.985	8.896	4.986	1.702	1.873

DETERMINACIÓN DE LA CENIZA

MUESTRA	REPLICA	m ₁ (masa crisol vacío, en g)	m ₂ (masa crisol + muestra, en g)	m ₃ (masa crisol + cenizas, en g)
Harina integral de amaranto tostado	1	30,2652	40,2873	30,7030
	2	30,2622	35,2699	30,4638
Harina de trigo	1	33,2898	38,2963	33,3220
	2	45,4230	50,4305	45,4488
Galleta 1	1	29,2424	39,2386	29,3560
	2	29,2399	34,2408	29,2925
Galleta 2	1	28,9118	38,9210	29,0671
	2	28,9094	33,9176	28,9811
Galleta 3	1	33,2919	43,2919	33,4508
	2	25,7674	30,7754	25,8374
Galleta 4	1	27,4883	37,5218	27,6488
	2	27,4854	32,4867	27,5668
Galleta 5	1	24,6010	34,6030	24,7718
	2	24,5973	29,5993	24,6822



c) ANÁLISIS FITOQUÍMICO

DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

Disolvente	m ₁ (masa de la cápsula vacía, en g)	m ₂ (masa de la cápsula + muestra seca, en g)
Agua	141,09	141,17
Metanol al 85%	100,79	100,82
Etanol al 80%	119,40	119,43
Etanol al 94%	84,23	84,29
Éter de petróleo	143,57	143,63
Acetato de etilo	117,56	117,62

Disolvente	M (masa de la muestra, en g)	H (humedad de la muestra) (*)	Residuo de la muestra, en g.	Porcentaje de sustancias solubles (base seca).
Agua	5,012	12,344	0,08	9,127
Metanol al 85%	5,007		0,03	3,422
Etanol al 80%	5,007		0,03	3,422
Etanol al 94%	5,008		0,06	6,845
Éter de petróleo	5,008		0,06	6,845
Acetato de etilo	5,000		0,06	6,845

(*) HUMEDAD DE LA HARINA INTEGRAL DE AMARANTO SIN TOSTAR

MUESTRAS	REPLICA	m (masa de la muestra, en g)	m ₁ (masa de la cápsula + muestra desecada, en g)	m ₂ (masa de la cápsula + muestra, en g)
Harina integral de amaranto sin tostar	1	2,000	24,299	24,546
	2	2,002	25,056	25,303

Muestras	REPLICA	% Humedad
Harina integral de amaranto sin tostar	1	12,350
	2	12,338
	Promedio	12,344

**d) ANÁLISIS SENSORIAL****1) CALIFICACIÓN DE LAS GALLETAS POR CADA ATRIBUTO EVALUADO.**

	Galleta 1	Galleta 2	Galleta 3	Galleta 4	Galleta 5
Aspecto general	226	171	174	183	153
Sabor	199	200	201	215	179
Color	210	162	153	166	156
Olor	194	185	187	208	164
Textura	210	175	157	158	161
Dulzor	210	201	198	212	180
Sabor extraño	179	166	157	162	158

CALIFICACIÓN DE LAS GALLETAS POR CADA ATRIBUTO EXPRESADOS EN PORCENTAJE

	Galleta 1	Galleta 2	Galleta 3	Galleta 4	Galleta 5
Aspecto general (%)	90,4	68,4	69,6	73,2	61,2
Sabor (%)	79,6	80,0	80,4	86,0	71,6
Color (%)	84,0	64,8	61,2	66,4	62,4
Olor (%)	77,6	74,0	74,8	83,2	65,6
Textura (%)	84,0	70,0	62,8	63,2	64,4
Dulzor (%)	84,0	80,4	79,2	84,8	72,0
Sabor extraño (%)	71,6	66,4	62,8	64,8	63,2

100% = número total de encuestados (50) x puntaje máximo para cada atributo de acuerdo a la escala hedónica aplicada (5 puntos).

Así: $50 \times 5 = 250$ puntos (100% de aceptabilidad)

2) CALIFICACIÓN DE LAS GALLETAS CONSIDERADOS TODOS LOS ATRIBUTOS EVALUADOS.

GALLETA	CALIFICACIÓN TOTAL	PORCENTAJE DE ACEPTABILIDAD (%)
Galleta 1	1428	86,1
Galleta 2	1260	72
Galleta 3	1227	70,1
Galleta 4	1304	74,5
Galleta 5	1151	65,8

100%=número total de encuestados (50) x puntaje máximo que se le puede dar a cada atributo (5) x por el número de atributos evaluados (7).

Así: $50 \times 5 \times 7 = 1750$ puntos (100% de aceptabilidad).