

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE PERLADO EN EL GRANO DE QUINUA
(*Chenopodium quinoa Wild.*), ECOTIPO BLANCA DE JERICÓ: EVALUACIÓN DE
LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.



ANDRÉS FELIPE AHUMADA MAMIAN

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN

2019

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE PERLADO EN EL GRANO DE QUINUA
(*Chenopodium quinoa Wild.*), ECOTIPO BLANCA DE JERICÓ: EVALUACIÓN DE
LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de magister
en ciencias química

ANDRÉS FELIPE AHUMADA MAMIAN

Director:

Ph. D. RICARDO BENÍTEZ BENÍTEZ

Grupo de investigación química de productos naturales (QPN)

Departamento de química

Universidad del Cauca

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

POPAYÁN

2019

NOTA DE ACEPTACION


Director:


Dr. Ricardo Benítez Benítez

Jurado:

Maite del pilar Rada
Dra. MAITE DEL PILAR RADA

Jurado:


Dra. EUNICE RÍOS VÁSQUEZ

Lugar y fecha de sustentación: Popayán 15 de marzo de 2019

AGRADECIMIENTOS

A Dios que permitió todos los medios para cumplir esta meta, ya que sin su apoyo no era posible. A mis padres Guillermo Ahumada Ahumada y Rubiela Mamian Guzmán que fueron los que empezaron este sueño y me dieron su apoyo. Al profesor Ricardo Benítez Benítez por su colaboración y paciencia. A la Universidad del Cauca y su Vicerrectoría de Investigación por el apoyo financiero a través del proyecto VRI-4346 y a la Corporación Incubadora de Empresas Agroindustriales del Cauca (Agroinnova). A mi amiga Anyi Campo por su apoyo en los momentos difíciles.

TABLA DE CONTENIDO

	LISTA DE TABLAS	8
	LISTA DE GRÁFICAS	13
	LISTA DE FIGURAS	14
	LISTA DE DIAGRAMAS	15
	LISTA DE ANEXOS	16
	LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	19
1.	RESUMEN	21
2.	INTRODUCCIÓN	22
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
4.	OBJETIVOS	25
4.1.	General	25
4.2.	Específicos	25
5.	MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	26
5.1.	Generalidades	26
5.2.	Usos de la quinua	26
5.2.1.	La quinua en el Departamento del Cauca	26
5.3.	Clasificación taxonómica	27
5.4.	Características botánicas de la planta	27
5.5.	Composición proximal	28
5.5.1.	Proteína	28
5.5.1.1	Digestibilidad de la proteína	30
5.5.2.	Carbohidratos	31
5.5.3	Grasa	32
5.5.4	Vitaminas	33
5.5.5	Minerales	34
5.6.	Compuestos antinutricionales en la semilla de quinua	34
5.6.1.	Saponinas	34
5.6.1.1	Métodos de extracción de saponinas en la quinua	38
5.6.1.2.	Métodos de cuantificación de saponinas	40

5.6.1.3.	Efectos biológicos	41
5.7.	Análisis estadístico de los resultados	43
5.7.1.	Prueba de normalidad	43
5.7.2.	Prueba de varianza iguales (Homocedasticidad)	44
5.7.3.	Prueba T	44
5.7.4.	Prueba Anova	45
5.7.5.	Prueba Tukey	45
5.7.6.	Prueba de Mann Whitney	46
5.7.7.	Prueba de Kruskal Wallis	47
5.8.	Diseño de bloques aleatorizados	47
6.	METODOLOGÍA	49
6.1.	Muestreo	49
6.2.	Proceso de perlado	49
6.3.	Pérdida de peso	51
6.4.	Molienda	51
6.5.	Análisis proximal	51
6.6.	Perfil de aminoácidos	51
6.7.	Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas	52
6.8.	Determinación y cuantificación de saponinas por CLAR-DAD	53
6.9.	Estandarización CLAR-DAD para cuantificación de saponinas	54
6.10.	Cuantificación de saponinas por Liebermann-Burchard	55
6.11.	Determinación de vitaminas	56
6.11.1.	Vitaminas del complejo B	56
6.11.2.	Vitaminas liposolubles	57
6.12.	Inhibición bacteriana de las saponinas	58
6.13.	Procedimiento del análisis estadístico	59
7.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	62
7.1.	Análisis de la clasificación de la quinua	62
7.2.	Análisis de la pérdida de peso en las muestras perladas	62

7.3.	Análisis del efecto de perlado en la composición proximal	63
7.4.	Análisis del efecto de perlado en la composición de aminoácidos	81
7.5.	Análisis del efecto de perlado en la digestibilidad del grano	89
7.6.	Estandarización del CLAR-DAD para cuantificar saponinas	92
7.7.	Análisis del efecto de perlado en la concentración de saponinas	94
7.8.	Evaluación de las saponinas por la metodología Liebermann-Burchard y comparación con CLAR-DAD	98
7.9.	Análisis del efecto de perlado en la concentración de vitaminas	100
7.10.	Evaluación de actividad antibacteriana de las saponinas	103
8.	CONCLUSIONES	107
9.	RECOMENDACIONES	108
	ANEXOS	109
	BIBLIOGRAFÍA	126

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación botánica	27
Tabla 2	Características anatómicas de la quinua	28
Tabla 3	Composición proximal del grano de quinua y otros granos de cereales muy utilizados en la alimentación humana (%)	29
Tabla 4	Contenido de aminoácidos esenciales (g/100 g proteína) de diferentes fuentes y el consumo óptimo de un adulto según la FAO/WHO/ONU	29
Tabla 5	Composición de aminoácidos de la quinua	30
Tabla 6	Composición de los carbohidratos en el grano de quinua	31
Tabla 7	Composición del almidón en la semilla de quinua	32
Tabla 8	Contenido de ácidos grasos del grano de quinua	32
Tabla 9	Contenido de vitaminas en diversos cereales ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ base seca)	33
Tabla 10	Contenido de elementos en diferentes cereales ($\text{mg}/100\text{ g}$ peso seco)	34
Tabla 11	Saponinas en diferentes partes de la planta de quinua, flor (Fl), fruto (F), grano (G), cascara (C), la aglicona base y carbohidratos de cada una	37
Tabla 12	Ventajas y desventajas de cada metodología de extracción de saponina	39
Tabla 13	Diseño de bloques aleatorizados	48
Tabla 14	Anova para el modelo de bloques aleatorizados	48
Tabla 15	Diseño experimental MxN	50
Tabla 16	Análisis proximal del grano de quinua	51
Tabla 17	Condiciones del CLAR para las vitaminas liposolubles	58
Tabla 18	Pérdida de peso del grano de quinua durante el proceso de perlado	63
Tabla 19	Composición proximal de cada experimento (%)	64
Tabla 20	Composición proximal de las diferentes partes del grano	64

	entero de quinua reportado en base seca.	
Tabla 21	Composición proximal reportada de la quinua integral por Norwak y colaboradores.	65
Tabla 22	Prueba de Shapiro-Wilk de todos los experimentos del diseño experimental para la composición proximal del grano de quinua.	66
Tabla 23	Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de perlado para la composición proximal del grano de quinua..	67
Tabla 24	Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de zona para la composición proximal.	67
Tabla 25	Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intrazonal.	68
Tabla 26	Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intraperlado de 0 y 10%	68
Tabla 27	Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intraperlado de 30 y 50%	68
Tabla 28	Prueba de Levene por bloque de perlado y zona para la composición proximal del grano de quinua.	69
Tabla 29	Prueba anova de la composición proximal del grano de quinua intrazonal a 2000 msnm, para los diferentes niveles de perlado.	69
Tabla 30	Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 2000 msnm.	70
Tabla 31	Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 2000 msnm.	70
Tabla 32	Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 2000 msnm.	70
Tabla 33	Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 2000 msnm.	71
Tabla 34	Prueba anova de la composición proximal intrazonal a 2500	72

	msnm, para los diferentes niveles de perlado.	
Tabla 35	Prueba anova de la composición proximal intrazonal a 30000 msnm, para los diferentes niveles de perlado.	73
Tabla 36	Prueba anova de la composición proximal intraperlado del grano integral.	74
Tabla 37	Prueba Tukey para la composición de cenizas intraperlado del grano integral.	75
Tabla 38	Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado del grano integral.	75
Tabla 39	Prueba Tukey para la composición de fibra intraperlado del grano integral.	76
Tabla 40	Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 10%.	76
Tabla 41	Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 30%.	77
Tabla 42	Determinación de la interacción de las variables perlado y zona.	78
Tabla 43	Anova para los bloques de perlado y zona.	79
Tabla 44	Composición porcentual de los diferentes aminoácidos a 2000, 2500 y 3000 msnm.	82
Tabla 45	Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para el bloque de zona.	83
Tabla 46	Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los bloques 0 y 10% de perlado.	83
Tabla 47	Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para para los bloques 30 y 50% de perlado.	84
Tabla 48	Prueba de Levene, para la homocedasticidad de varianzas, para los aminoácidos.	85
Tabla 49	Anova del bloque de la zona con el error, para los aminoácidos.	86

Tabla 50	Anova del bloque de perlado con el total, para los aminoácidos.	86
Tabla 51	Prueba tukey para los aminoácidos en los diferentes bloques de las zonas.	87
Tabla 52	Prueba tukey para los aminoácidos en los diferentes bloques de perlado.	88
Tabla 53	Anova de un factor para el aminoácido serina.	89
Tabla 54	Digestibilidad del grano en cada experimento.	90
Tabla 55	Prueba de Shapiro-Wilk, para los bloques de perlado y zona de la digestibilidad del grano.	90
Tabla 56	Prueba de Levene para los bloques de perlado y zona de la digestibilidad del grano.	90
Tabla 57	Anova por bloques de altura y perlado, para la digestibilidad del grano.	91
Tabla 58	Prueba Tukey para los bloques de perlado.	91
Tabla 59	Valores obtenidos de LOD, LOQ, rango lineal.	92
Tabla 60	Repetitibilidad del método CLAR-DAD (mg/100g quinua).	93
Tabla 61	Reproducibilidad del método CLAR-DAD (mg/100g quinua).	93
Tabla 62	Porcentaje de saponinas en el grano de quinua.	94
Tabla 63	Prueba de Shapiro-Wilk de cada experimento para la concentración de saponinas.	95
Tabla 64	Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de perlado para la concentración de saponinas.	95
Tabla 65	Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de zona para la concentración de saponinas.	96
Tabla 66	Anova para la concentración de saponinas intrazonal.	96
Tabla 67	Prueba Kruskal-Wallis para la concentración de saponinas por bloque de zona.	98
Tabla 68	Curva de calibración Liebermann-Burchard.	98
Tabla 69	Porcentaje de saponinas en el grano de quinua.	99

Tabla 70	Vitaminas liposolubles e hidrosolubles en quinua (mg/100g de muestra).	100
Tabla 71	Prueba de Shapiro-Wilk para las vitaminas.	101
Tabla 72	Inhibición en mm de <i>E. coli</i> de los residuos.	104
Tabla 73	Inhibición en mm de <i>K.pneumoniae</i> de los residuos.	105
Tabla 74	Inhibición en mm de <i>S.aureus</i> de los residuos.	106

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1	Curva de van Deemter	92
Gráfica 2	Curva de calibración de saponinas por Liebermann–Burchard	99
Gráfica 3	Actividad biológica de los cuatro residuos contra el <i>E. coli</i>	104
Gráfica 4	Actividad biológica de cuatro residuos contra el <i>K. pneumoniae</i>	105
Gráfica 5	Actividad biológica de cuatro residuos contra el <i>S. aureus</i>	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sección longitudinal del grano de quinua (ampliación por MBE)	28
Figura 2	Cuerpos de saponinas triterpénicas: a) damarano, b) oleanano, c) ursano, d) lupano	35
Figura 3	Cuerpos esteroidales de las saponinas. a) espirostano, b) furostano, c) colestano, d) cardenólido	35
Figura 4	Estructura de la β -amirina	36
Figura 5	Estructuras de las agliconas de las saponinas. a) ácido oleanólico, b) Hederagenina, c) ácido $3\beta,23,30$ -trihidroxi olean-12-eno-28-oico, d) gipsogenina, e) ácido 3β -hidroxi-27-oxoolean-12-eno-28-oico f) ácido espergulagénico, g) ácido serjanico, h) ácido fitolacagénico	36
Figura 6	Estructuras de diversas saponinas. a) Saponina monoglicosilada, b) Saponina diglicosilada, c) Saponina triglicosilada	38
Figura 7	Reacción de Liebermann Burchard.	41
Figura 8	Cromatograma de la quinua.	93

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1	Plantilla de muestreo	49
Diagrama 2	diagrama de flujo del procedimiento realizado	50
Diagrama 3	Proceso para determinar si en dos o más niveles de las variables independientes hay o no diferencias significativas	60

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Articulo 1	109
Anexo 2	Articulo 2	110
Anexo 3	Prueba Tukey para la composición de humedad intrazonal a 2500 msnm.	111
Anexo 4	Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 2500 msnm.	111
Anexo 5	Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 2500 msnm.	111
Anexo 6	Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 2500 msnm.	111
Anexo 7	Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 2500 msnm.	112
Anexo 8	Prueba Tukey para la composición de humedad intrazonal a 3000 msnm.	112
Anexo 9	Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 3000 msnm.	112
Anexo 10	Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 3000 msnm.	112
Anexo 11	Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 3000 msnm.	113
Anexo 12	Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 3000 msnm.	113
Anexo 13	Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 10%, con respecto a la altura.	113
Anexo 14	Prueba Tukey para la composición de fibra intraperlado 10%, con respecto a la altura.	113
Anexo 15	Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 10%, con respecto a la altura.	114
Anexo 16	Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 50%.	114

Anexo 17	Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 50%, con respecto a la altura.	114
Anexo 18	Prueba Tukey para la composición de grasa por bloque de zona.	115
Anexo 19	Prueba Tukey para la composición de fibra por bloque de zona.	115
Anexo 20	Prueba Tukey para la composición de ENN por bloque de zona.	115
Anexo 21	Prueba Tukey para la composición de humedad por bloque de perlado.	115
Anexo 22	Prueba Tukey para la composición de grasa por bloque de perlado.	116
Anexo 23	Prueba Tukey para la composición de fibra por bloque de perlado.	116
Anexo 24	Prueba Tukey para la composición de proteína por bloque de perlado.	116
Anexo 25	Prueba Tukey para la composición de ENN por bloque de perlado.	116
Anexo 26	Prueba Tukey para la composición de cenizas por bloque de perlado.	117
Anexo 27	Prueba Tukey para la composición de cenizas por zona.	117
Anexo 28	Prueba Tukey para la composición de cenizas por perlado.	117
Anexo 29	3 cromatogramas de las curvas de calibración de los aminoácidos	118
Anexo 30	Prueba de Levene para la concentración de saponinas intrazonal.	118
Anexo 31	Prueba de Levene para la concentración de saponinas intraperlado.	119
Anexo 32	Prueba de Levene para la concentración de saponinas para el bloque de perlado.	119
Anexo 33	Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal (2000 msnm con diferente porcentaje de perlado).	119
Anexo 34	Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal	119

	(2500 msnm con diferente porcentaje de perlado).	
Anexo 35	Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal (3000 msnm con diferente porcentaje de perlado).	120
Anexo 36	Anova para la concentración de saponinas intraperlado.	120
Anexo 37	Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado (10% en diferentes zonas).	120
Anexo 38	Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado (30% en diferentes zonas).	121
Anexo 39	Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado.	121
Anexo 40	Anova para la concentración de saponinas por bloque de perlado.	121
Anexo 41	Prueba T3 de Dunnett para la concentración de saponinas por bloque de perlado.	121
Anexo 42	3 cromatogramas de las curvas de calibración de las vitaminas hidrosolubles.	122
Anexo 43	Prueba de Levene para los datos normales de vitaminas.	122
Anexo 44	Anova del bloque de zona con el error, para vitaminas.	123
Anexo 45	Anova del bloque de perlado con el total.	123
Anexo 46	Prueba Tukey de la vitamina para la zona.	123
Anexo 47	Prueba Duncan de la vitamina D para la variable perlado.	123
Anexo 48	Prueba Tukey de la variable perlado para las vitaminas.	124
Anexo 49	Anova de los factores: perlado y altura para la vitamina A de una sola vía.	124
Anexo 50	Prueba Tukey de la variable perlado para la vitamina A.	125

LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

Ala	Alanina
Anova	Análisis de varianzas
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
Cys	Cisteína
DAD	Detector de arreglo de diodos
Desv	Desviación estándar
ENN	Extracto no nitrogenado
Est	Estadístico
Exp	Experimento
Ext	Extracción
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación
GI	Grados de libertad
Gln	Glutamina
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
His	Histidina
Ile	Isoleucina
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
Leu	Leucina
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
Lys	Lisina

MBE	Microscopía de barrido electrónico
Met	Metionina
N.R	No reportado
Phe	Fenilalanina
PITC	Fenilsiotiocianato
Pro	Prolina
Prom	Promedio
PVDF	Polifluoruro de vinilideno
Ser	Serina
Thr	Treonina
TOF	Tiempo de vuelo
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
UV-VIS	Ultravioleta-visible
Val	Valina
Vit	Vitamina

1. RESUMEN

Al grano de quinua cultivada en tres zonas diferentes del municipio de Bolívar-Cauca a (2000, 2500 y 3000 msnm), se realizó el proceso de desaponificación a través de una máquina perladora a diferentes porcentajes de abrasión (10, 20 y 30%), se determinó la influencia de las zonas geográfica y el perlado, sobre la composición proximal, los aminoácidos, digestibilidad *in vitro* de proteínas, saponinas y vitaminas, en el grano desaponificado con respecto al grano integral; además se analizó la actividad biológica del residuo.

El grano desaponificado que las mejores condiciones nutricionales para el consumo del ser humano, es el grano con un 30% de perlado, aunque con un perlado de 30% o superior, se obtiene una concentración de las saponinas menor a 0,11%, valor con el cual la quinua es adecuada para el consumo humano, sin importar la zona donde se cultivó, pero este proceso hace que la concentración de la grasa, ceniza, fibra, vitaminas, leucina, triptófano y fenilalanina disminuyan significativamente; la zona también afecta significativamente la concentración de la grasa, ceniza, fibra, extracto no nitrogenado, de los aminoácidos excepto triptófano.

Como parte de este trabajo se han publicado dos artículos: Ahumada A, Ortega A, Chito D, Benítez R. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas 2016; 45(3): 438 – 469 y Chito D, Ortega A, Ahumada A, Rosero B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) versus soja (*Glycine max* [L.] Merr.) en la nutrición humana: revisión sobre las características agroecológicas, de composición y tecnológicas. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética. 2017; 21(2): 184 - 198 (Ver anexo 1 y 2).

2. INTRODUCCIÓN

La quinua es un alimento ancestral, originario de América del sur y distribuido principalmente en los países de la cordillera de los andes que pertenecían al antiguo imperio inca, desde el norte de Chile hasta el sur de Colombia. La semilla ha despertado desde finales del siglo pasado gran interés por sus propiedades nutritivas, asociadas con el contenido de aminoácidos esenciales en especial de lisina y metionina; concentración elevada de minerales y alto contenido de ácidos grasos insaturados que potencian a este alimento para el control en humanos del lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y triglicéridos.⁽¹⁻⁵⁾

El grano de quinua contiene en la cáscara una gran variedad de saponinas triterpénicas que actúan como barrera protectora contra organismos patógenos y animales herbívoros. Cuando la concentración de saponinas es mayor de 0,11%, el grano adquiere sabor amargo, lo cual constituye un factor antinutricional, al impedir el buen funcionamiento del intestino delgado.⁽³⁾

La extracción de saponinas ha sido motivo de numerosas investigaciones que incluyen procesos eficientes como la percolación, lavados sucesivos de agua, reflujo y extracción Soxhlet, que son poco amigables con el medio ambiente, especialmente por el consumo de grandes cantidades de agua, solvente y energía. En respuesta a estas dificultades, han surgido otras metodologías denominadas verdes como el ultrasonido, microondas, y el perlado. Esta última es la técnica más empleada a nivel industrial; no utiliza solvente y mediante la abrasión se extrae el pericarpio del grano, empleando un volumen mínimo de agua.^(3, 6-8)

La capacidad de adaptación de la quinua en diferentes zonas del Departamento del Cauca, ha permitido mejorar la producción; además la gobernación del Cauca ha fomentado su cultivo por medio del Programa de Alimentación y Nutrición Escolar-PANES-, con el propósito de alimentar a los niños de los colegios y escuelas rurales. En esta zona los productores utilizan el perlado, con resultados

variables en la composición nutricional. Al observar esta dificultad se planteó este proyecto, presentado como respuesta a la necesidad planteada, en busca de un procedimiento que garantice una concentración de saponinas menor al 0,11% y que conserve las propiedades nutricionales del grano, minimizando los efectos medio ambientales que causa el proceso de perlado.

También se han considerado objeto de estudio el tratamiento de las aguas del lavado en el proceso industrial de la quinua, que en lugar de ser una amenaza para el medio ambiente, podría convertirse en valor agregado por el elevado contenido de saponinas. La comercialización de estas sustancias una vez aisladas, beneficiaría a toda la comunidad productora de la semilla de quinua, ya que los contaminantes reportados tienen un potencial de actividad antitumoral, fungicida, hemolítica y antiinflamatoria.⁽⁹⁻¹²⁾

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La gobernación del departamento del Cauca y la Corporación Incubadora de Empresas Agroindustriales del Cauca – AGROINNOVA-, han realizado ingentes esfuerzos para unir las empresas productoras de quinua (*Chenopodium quinoa Wild.*), considerando que es un alimento apto para la humanidad como sustituto de la proteína animal. La agremiación de las microempresas puede hacerlas más competitivas en la producción y transformación del grano, mediante la conformación de una gran cadena productiva. A la fecha se ha logrado que los campesinos de las áreas rurales de los municipios de Almaguer, Bolívar, Caldono, La Vega, Jambaló, Silvia, Santa Rosa, Sotaró, Puracé, Rosas, Toribío y Totoró cultiven principalmente el ecotipo *Blanca de Jericó*. Sin embargo, no se han incorporado actividades de investigación que mejoren y consoliden las etapas de producción del cultivo, procesamiento del grano y los efectos del proceso de eliminación de saponinas en su composición nutricional, entre otros. La falta de una adecuada estandarización de las etapas mencionadas ha hecho que los agricultores y comercializadores no puedan consolidar un valor comercial de sus productos, reduciendo las posibilidades de mejorar los ingresos.⁽¹³⁾

El estudio y tecnificación del desaponificado es primordial, para garantizar el rendimiento económico mediante la comercialización de un producto estandarizado y de la mejor calidad. Esto exige estudios de estandarización del proceso de producción en todas las etapas, para garantizar además de la cosecha, la eliminación completa de saponinas, sin afectar el contenido nutricional y obviamente, las propiedades organolépticas del grano.

Además de la estandarización del proceso de remoción de las saponinas, se investigó la actividad antibacteriana del residuo obtenido del perlado, con el fin de dar adicionalmente un valor agregado al cultivo a través de la posibilidad de comercialización de las saponinas.⁽⁸⁾

4. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar la metodología de perlado del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Wild.*) ecotipo Blanca de Jericó, cultivada en el municipio de Bolívar - Cauca, mediante la determinación del contenido de saponinas y la composición en el grano.

4.2 Específicos

- ✓ Evaluar el efecto en la composición proximal de los granos de quinua ecotipo “Blanca de Jericó”, pre y pos del proceso de desaponificación.
- ✓ Analizar el efecto del proceso de remoción de las saponinas en la composición de aminoácidos presentes en las semillas, antes y después del perlado.
- ✓ Determinar las condiciones adecuadas para el proceso de perlado.
- ✓ Estandarizar la determinación de las saponinas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
- ✓ Evaluar el contenido de saponinas por la metodología de Liebermann-Burchard.

5. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

5.1. Generalidades

La quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) es un pseudocereal originario de América del sur, especialmente de Ecuador, Bolivia, Perú, Chile y Colombia, en estos países, el cultivo se remonta a 7000 años, en la zona suroccidental de los mismos. La planta de quinua tiene una enorme capacidad para tolerar heladas, salinidad excesiva, sequías y crece en suelos marginales.^(1, 3)

Las comunidades colombianas utilizan la quinua como alimento, por la calidad nutricional. En virtud a esto, se han creado programas de mejoramiento en la producción y disminución de las saponinas en el grano, a partir de la década de los 60's, en los Andes. Más recientemente, en la década de los 70's se crearon programas especiales para el mejoramiento en Estados Unidos, Canadá, India, Inglaterra y Dinamarca. La quinua ha adquirido un gran auge y se ha convertido en una alternativa alimentaria del futuro, por ello la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación – FAO - estableció el año internacional de la quinua en el 2013.^(8, 14-16)

5.2. Usos de la quinua

Su uso como alimento ha prevalecido desde épocas remotas; sin embargo, recientemente se han reportado usos alternativos asociados con el contenido de vitaminas, minerales (hierro, magnesio y fósforo), al igual que, aceites y antioxidantes fenólicos, incluso, se ha demostrado el aprovechamiento de las saponinas considerando la actividad antifúngica de estas sustancias.^(3, 17-20)

5.2.1 La quinua en el Departamento del Cauca

La quinua, desde tiempos remotos, ha sido cultivada en el Departamento del Cauca, pero al inicio del presente siglo, se dio un enorme apoyo y acompañamiento a campesinos e indígenas de la región, para impulsar la siembra en el Macizo Colombiano y en otras regiones de la cordillera central, situadas por encima de los 2.000 msnm, con condiciones agroeconómicas adecuadas,

mediante programas de sustitución de cultivos ilícitos. El auge se notó en el 2004, cuando el resguardo de Guambía, en el municipio de Silvia, inició un proceso de rescate de productos tradicionales, entre ellos la quinua, llegando a producir el departamento del Cauca cerca de 1400 toneladas por año. Esta iniciativa fue complementada en el 2005 por la Gobernación del Cauca con el Programa de Alimentación y Nutrición Escolar - PANES, el cual se ha mantenido hasta ahora, fomentando el cultivo de quinua en diferentes municipios del Departamento, especialmente en los que están ubicados sobre la cordillera central.⁽¹³⁾

Actualmente hay resultados importantes en la reducción de la desnutrición y disminución en la deserción escolar. El acceso a los alimentos ha venido incrementándose en la población infantil y en jóvenes de 157 Instituciones agropecuarias del Departamento, beneficiando a cerca de 85000 niños de dichas Instituciones educativas.⁽¹³⁾

5.3. Clasificación taxonómica

La quinua está plenamente caracterizada taxonómicamente. En la Tabla 1 se presenta la clasificación botánica de esta planta:

Tabla 1. Clasificación botánica⁽¹⁾

Clasificación	Quinua
Subclase	Dicotiledónea
Grupo	Thalamiflorae
Orden	Cariofilales
Familia	Chenopodiaceae
Género	Chenopodium
Especie	Quinoa

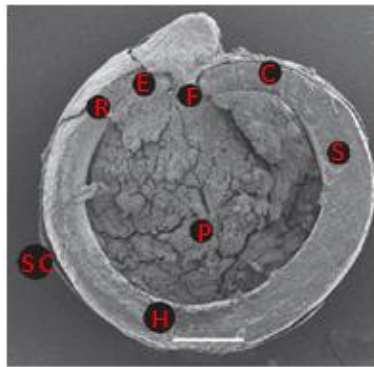
5.4. Características botánicas de la planta

Las características botánicas y morfológicas de la quinua, una planta de periodicidad anual, se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Características anatómicas de la quinua^(1, 8, 21-23)

Anatomía	Características
Altura	1 – 3 m
Tallo	Cilíndrico lineal o ramificado, diámetro 3.5 cm
Hojas	Hojas superiores lanceoladas y hojas inferiores romboidales
Raíz	1.5 m
Flores	Sin pétalos, por la forma se denomina panícula. Longitud 15 a 70 cm.
Fruto	Pequeño y redondo. En promedio, diámetro 1,5 – 4,0 mm, peso 2,5 – 3,0 mg. Color: diversos, desde el blanco hasta el negro. Posee pericarpio, endospermo y perispermo. (Ver figura 1)

Figura 1: Sección longitudinal del grano de quinua (ampliación por MBE).



Eje radicular hipocotilico (H), cotiledones (C), endospermo (E), funículo (F), perispermo (P), cubierta (SC), punta radicular (R) y ápice (S).⁽¹⁾

5.5. Composición proximal

El grano de quinua, posee una elevada concentración de proteína, grasa y minerales, más alta que la de avena, trigo, cebada, maíz y arroz. En la Tabla 3 se muestran los valores de la composición proximal de las semillas mencionadas.^(1, 5)

5.5.1. Proteína.

La proteína se localiza principalmente en la cáscara del grano. Las albúminas y globulinas son las fracciones de proteínas principales, con un contenido aproximado de 44 a 77% de proteína total. El componente más abundante es el llamado chenopodin 11S de tipo globulina y las prolaminas que oscilan entre el 0,5 y el 7,0%.^(1, 21, 24, 25)

Tabla 3. Composición proximal del grano de quinua y otros granos de cereales muy utilizados en la alimentación humana (%)^(1, 4, 5, 21)

Composición	Quinua	Avena	Trigo	Cebada	Maíz	Arroz
Humedad	10,0 – 13,0	8,5	13,0	13,0	15,0	15,0
Proteína	14,0 – 16,5	14,0	14,0	1,0	13,0	8,0
Grasa	5,0 – 1,0	8,0	2,0	1,0	4,0	1,0
Minerales	3,0	1,8	2,0	2,0 – 3,0	2,0	1,0
Carbohidratos	60,0 – 77,6	58,7	69,0	70,0	66,0	78,0
Fibra	2,0 – 3,0	8,0	2,3	4,0	3,0	2,0

El trigo y el maíz, se caracterizan por un bajo contenido del aminoácido esencial lisina; por el contrario, el grano de quinua posee un excelente balance de aminoácidos esenciales, superior a otros cereales y leguminosas (Tabla 4). En esta planta el porcentaje de lisina y metionina es muy alto, de 5,1 – 6,4% y 0,4 – 1,0%, respectivamente en base húmeda.^(1, 4, 5)

Tabla 4. Contenido de aminoácidos esenciales (g/100 g proteína) de diferentes fuentes y el consumo óptimo de un adulto según la FAO/OMS/ONU^(1, 4, 5)

AA	Quinua				Maíz	Arroz	Trigo	Frijol	Leche	FAO/OMS /ONU
	Min	Max	Datos	Prom						
His	1,4	5,4	41	2,7	2,6	2,1	2,0	3,1	2,7	1,5
Iso	0,8	7,4	42	3,1	4,0	4,1	4,2	4,5	10,0	3,0
Leu	2,3	9,4	42	6,0	12,5	8,2	6,8	8,1	6,5	5,9
Lys	2,4	7,8	42	4,8	2,9	3,8	2,6	7,0	7,9	4,5
Met + Cys	0,4	11,8	41	7,7	4,0	3,6	3,7	1,2	2,5	2,2
Phe + Tyr	2,7	10,3	41	6,3	8,6	10,5	8,2	5,4	1,4	3,8
Thr	2,1	8,9	42	3,7	3,8	3,8	2,8	3,9	4,7	2,3
Trp	0,6	1,9	27	0,9	0,7	1,1	1,2	1,1	1,4	0,6
Val	0,8	6,1	42	3,7	5,0	6,1	4,4	5,0	7,0	3,9

En consideración a los valores indicados por la FAO / OMS / ONU, la quinua sin saponinas puede suministrar a la nutrición de adultos respecto al valor diario requerido, alrededor de 180% de histidina, 274% de isoleucina, 338% de lisina, 212% de metionina y cisteína, 320% de fenilalanina y tirosina, 331% de la treonina, 228% del triptófano y 323% de la valina. Al comparar la quinua con el

frijol, una leguminosa, la deficiencia en metionina no se presenta en la quinua, la metionina es fundamental para la formación de los tejidos del cuerpo.^(1, 5)

El perfil de aminoácidos esenciales, ha permitido concluir que la calidad de la proteína de la quinua, es equivalente a la proteína de la caseína de la leche. El grano posee también un contenido elevado de aminoácidos no esenciales para el ser humano adulto (Tabla 5).

Tabla 5. Composición de aminoácidos de la quinua⁽²⁵⁾

Aminoácido	g A.A/100 g proteína	Aminoácido	g A.A/100 g proteína
Serína	3,9	Glicina	5,0
Ácido aspártico	7,8	Alanina	4,1
Arginina	8,1	Prolína	3,4
Acido glutámico	13,2		

La composición nutricional de la quinua, ha generado grandes expectativas en la industria de concentrados de proteínas, que podrían generar productos del grano desaponificado. También han despertado gran interés las proteínas de la quinua aisladas, como materia prima industrial en el sector de los alimentos para humanos, siempre que el factor antinutricional de las saponinas se haya superado completamente.^(1, 26, 27)

5.5.1.1 Digestibilidad de la proteína.

La digestibilidad de las proteínas es un factor importante para estimar la disponibilidad de proteínas para la absorción intestinal después de la digestión, lo que refleja la eficacia de la utilización de proteínas en la dieta. La simulación *in vitro* es ampliamente utilizado para determinar la digestibilidad de las proteínas, ya que se imita el proceso de digestión que se produce en el tracto gastrointestinal. Se ha reportado una digestibilidad entre 60 y 75% para la quinua, pero cuando hay un proceso de cocción, se incrementa alrededor del 20%.^(28, 29)

5.5.2. Carbohidratos.

El grano de quinua contiene 60,0 – 77,6% de carbohidratos en base seca, su composición se muestra en la tabla 6.⁽¹⁾

Tabla 6. Composición de los carbohidratos en el grano de quinua⁽¹⁾

Tipo	% en base seca
Almidón	58,1 – 64,2
Fibra total dietaria	7,0 – 9,7
Fibra insoluble	6,8 – 8,4
Fibra soluble	1,3 – 6,1
Carbohidratos menores	2,9

Los carbohidratos de la quinua tienen efectos hipoglucemiantes y pueden incidir en la disminución del contenido de ácidos grasos libres, potencializando posibles beneficios a la salud humana, al promover niveles más bajos de ácidos grasos libres y concentraciones de triglicéridos significativamente más bajas en comparación con el pan sin gluten.^(17, 30)

El almidón se encuentra en el perispermo del grano de quinua en dos formas (ver tabla 7), que integran una esfera con un diámetro de 0,4 a 2,0 micras, menor que el de los gránulos de almidón hallados en el maíz, cuya dimensión es de 1 a 23 micras^(16, 25, 31), el almidón de la quinua, por su tamaño y al encontrarse en forma de esferas, además de su alta viscosidad, es ideal para aplicaciones como: agente para liberación de goma, carga biodegradable en el empaquetado polimérico, espesante de alimentos congelados y entre otras.^(1, 30)

La harina de quinua tiene un contenido de 2,9% de azúcares simples, con aproximadamente 0,2% de maltosa, 1,6% de sacarosa, 0,1% de fructosa y 1,0% glucosa.^(32, 33)

Tabla 7: Composición del almidón en la grano de quinua⁽²⁵⁾

Tipo	% en base seca
Amilosa	3,5 – 22,5
Amilopectina	77,5 – 96,5

El contenido de fibra dietética total de la quinua se encuentra principalmente en la cascara, cuando la quinua es sometida a un tratamiento térmico, esta puede verse afectada, mientras que la fracción de fibra dietética insoluble se verá afectada.⁽¹⁾

5.5.3. Grasas.

El contenido de grasa en el grano de quinua está entre el 5,0 y 10,0%, mayor que en el maíz, cuya concentración es del 4,0 %, donde el ácido graso saturado más abundante es el ácido palmítico con el 8,5% de los ácidos grasos, mientras que los ácidos mirístico, esteárico, behénico y lignocérico están en menor proporción; en cuanto a los ácidos grasos insaturados se encuentra el linoleico, linolénico y ácido oleico que representan alrededor del 85% de la grasa total, que tienen efectos positivos en la prevención de enfermedades cardiovasculares, en la sensibilidad a la insulina y en la disminución del colesterol. En la Tabla 8 se muestra el contenido de ácidos grasos en la semilla.^(1, 25)

Tabla 8: Contenido de ácidos grasos del grano de quinua.⁽¹⁾

Ácido graso	Porcentaje
Ácido mirístico (C14: 0)	0,14
Ácido palmítico (C16: 0)	8,50
Ácido esteárico (C18: 0)	0,66
Ácido oleico (C18: 1 ω9)	23,00
Ácido linoleico (C18: 2 ω6)	52,30
Ácido linolénico (C18: 3 ω3)	8,07
Ácido araquídico (C20: 0)	0,56
Ácido gadoleico (C20: 1 ω9)	1,66
Ácido eicosadienoico (C20: 2 ω6)	0,16
Ácido behénico (C22: 0)	0,98
Ácido eurico (C22: 1 ω9)	1,89
Ácido lignocérico (C24: 0)	0,45
Ácido nervónico (C24: 1 ω9)	0,21
Otros	1,43

*no contiene ácidos láurico (C12:0), palmitoleico (C16:1), margárico (C17:0) y heptadecanoico (C17:1)

Los ácidos grasos se pueden oxidar, pero están protegidos por la vitamina E, que actúa como antioxidante natural. Es importante destacar que la quinua contiene escualeno, en concentración de 0.0584%. Esto amplía el espectro de utilidad del grano, teniendo en cuenta que el escualeno se utiliza como bactericida y como intermediario en la obtención de diversos productos farmacéuticos y colorantes orgánicos.⁽¹⁾

5.5.4. Vitaminas

En la tabla 9 se muestra la composición de vitaminas del grano de quinua sin cáscara y se compara con la de otros granos sin cascara.

Tabla 9: Contenido de vitaminas en diversos cereales ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ base seca).⁽¹⁾

Vitamina	Quinua	Amaranto	Trigo	Cebada	Requerimiento
Ácido ascórbico	N.R.	4200	N.R.	N.R.	35000
Tiamina	360	110	420	370	300
Riboflavina	320	200	120	110	400
Ácido pantoténico	770	1460	950	140	
Niacina	1500	930	6730	6270	6000
Pirodoxina	490	590	420	400	300
Folato total	184	82	43	8	3000000
Retinol	46,67	6,67	0,00	N.R.	420
α -tocoferol	2,44	1,19	N.R.	0,57	3000
β - tocoferol	0,08	0,96	N.R.	N.R.	
γ - tocoferol	4,55	0,19	N.R.	N.R.	
δ - tocoferol	0,35	0,69	N.R.	N.R.	

N.R. no reportado

Los granos de quinua tienen una concentración elevada de vitaminas, en especial: niacina, ácido fólico, retinol, riboflavina y tocoferol, que satisfacen los requerimientos recomendados por el Comité de asignaciones dietéticas para los bebés, con mayor concentración que el trigo y la cebada. El proceso de eliminación de saponinas, esencial para que el grano sea apto para el consumo humano, no altera la composición de las vitaminas.⁽³³⁾

5.5.5. Minerales

Se ha reportado 3% de cenizas en el grano de quinua entero, en este los minerales a resaltar son Ca, Zn, Cu y Fe, que se encuentran en mayor proporción que otros granos de cereales (ver tabla 10). El mineral de hierro procedente de quinua, se caracteriza por ser altamente soluble, favoreciendo la disponibilidad de este elemento en tratamientos contra la anemia.^(15, 27, 33)

Tabla 10: Contenido de elementos en diferentes cereales (mg/100 g peso seco)⁽¹⁾

Elemento	Quinua	Cebada	Centeno	Trigo
Calcio	110,0	88,0	49,0	48,0
Magnesio	42,7	145,0	138,0	152,0
Zinc	4,8	1,5	2,0	3,3
Cobre	9,5	0,7	0,7	0,6
Fosforo	360,0	420,0	428,0	387,0
Hierro	9,2	5,0	4,5	4,6

5.6. Compuestos antinutricionales en la semilla de quinua

La semilla de quinua contiene saponinas y taninos, que son inhibidores de la proteasa y el ácido fítico. Estas sustancias, en especial las saponinas triterpénicas, reducen posibilidades en la comercialización de la quinua como alimento, debido a las alteraciones gastrointestinales que producen, con efectos adversos en los animales monogástricos y humanos; además producen un sabor amargo al grano, si tiene una concentración mayor a 0,11%. Esta característica ha generado numerosas investigaciones, generando diversos protocolos para extraer los compuestos nocivos mencionados.^(1, 3, 6, 10, 34)

5.6.1. Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundarios glicosilados, que se encuentran en diferentes partes del reino vegetal y son usadas por las plantas como barrera

protectora contra patógenos y herbívoros. Las saponinas se encuentran en las partes más vulnerables de las plantas como hojas, tallos, raíces y frutos.^(10, 35, 36)

Estos compuestos tienen un componente lipídico que puede ser triterpénico de cuatro tipos: damarano, oleanano, ursano y lupano (figura 2), frecuentes en dicotiledóneas y algunos erizos de mar, o pueden ser esteroidales de cuatro tipos: espirostano, furostano, colestano y cardenólido que se encuentran en las monocotiledóneas (figura 3).^(10, 35, 36)

Figura 2: Cuerpos de saponinas triterpénicas: a) damarano, b) oleanano, c) ursano, d) lupano

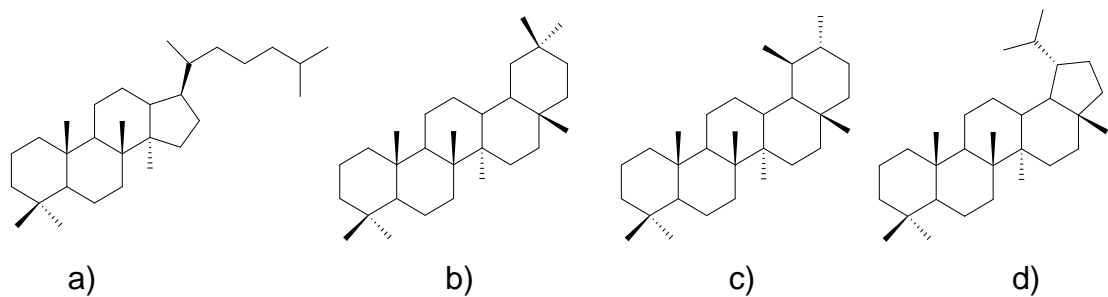
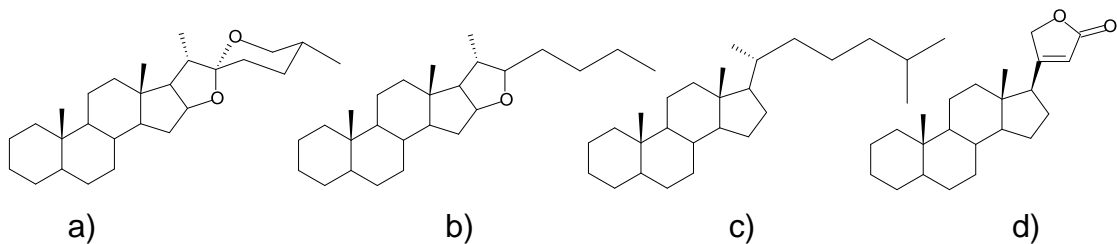
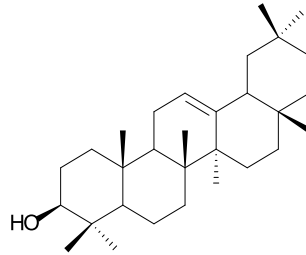


Figura 3: Cuerpos esteroidales de las saponinas. a) espirostano, b) furostano, c) colestano, d) cardenólido.



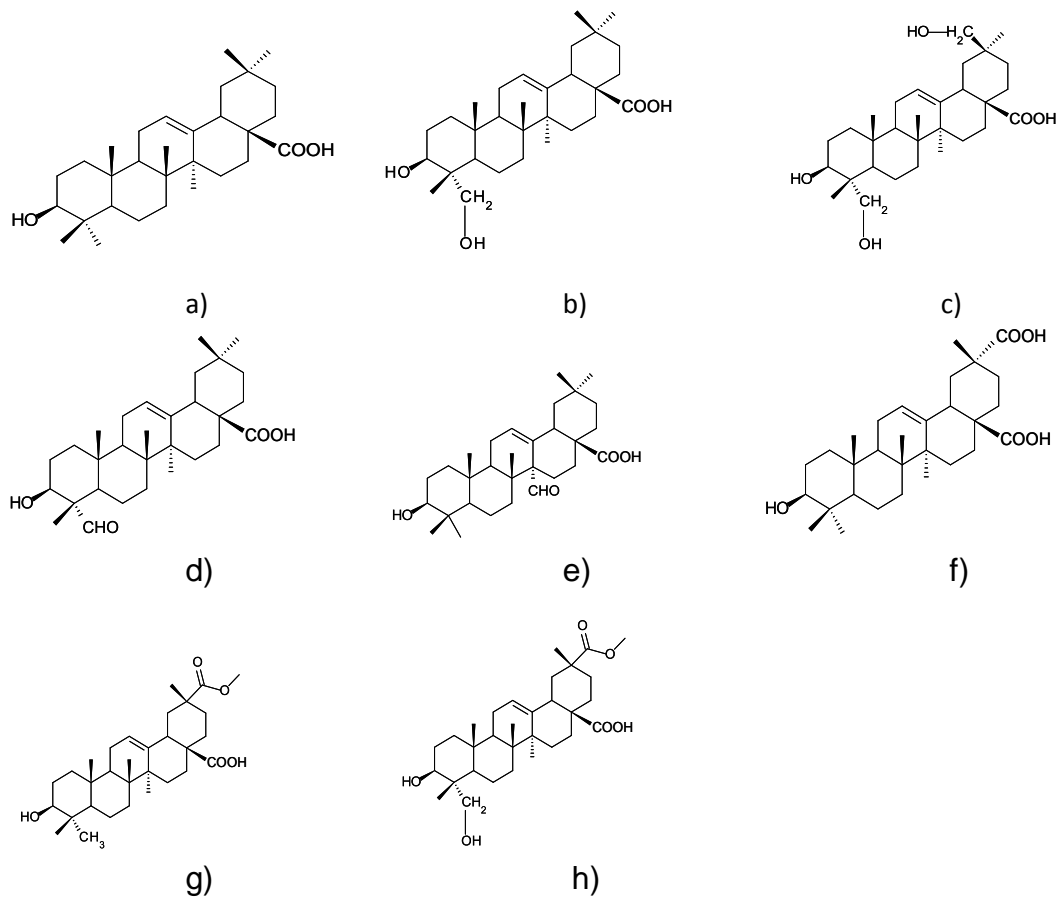
La quinua al ser una dicotiledónea, solo contiene saponinas triterpénicas. Todas las saponinas tienen en su esqueleto base la β -amirina (figura 4).⁽³⁵⁾

Figura 4: Estructura de la β -amirina



La planta de quinua convierte por medio de su metabolismo, la β -amirina en ocho agliconas que se muestran en la figura 5.^(3, 8, 10)

Figura 5: Estructuras de las agliconas de las saponinas. a) ácido oleanólico, b) Hederagenina, c) ácido 3 β ,23,30-trihidroxi olean-12-eno-28-oico, d) gipsogenina, e) ácido 3 β -hidroxi-27-oxolean-12-eno-28-oico f) ácido espergulagénico, g) ácido serjánico, h) ácido fitolacagénico.



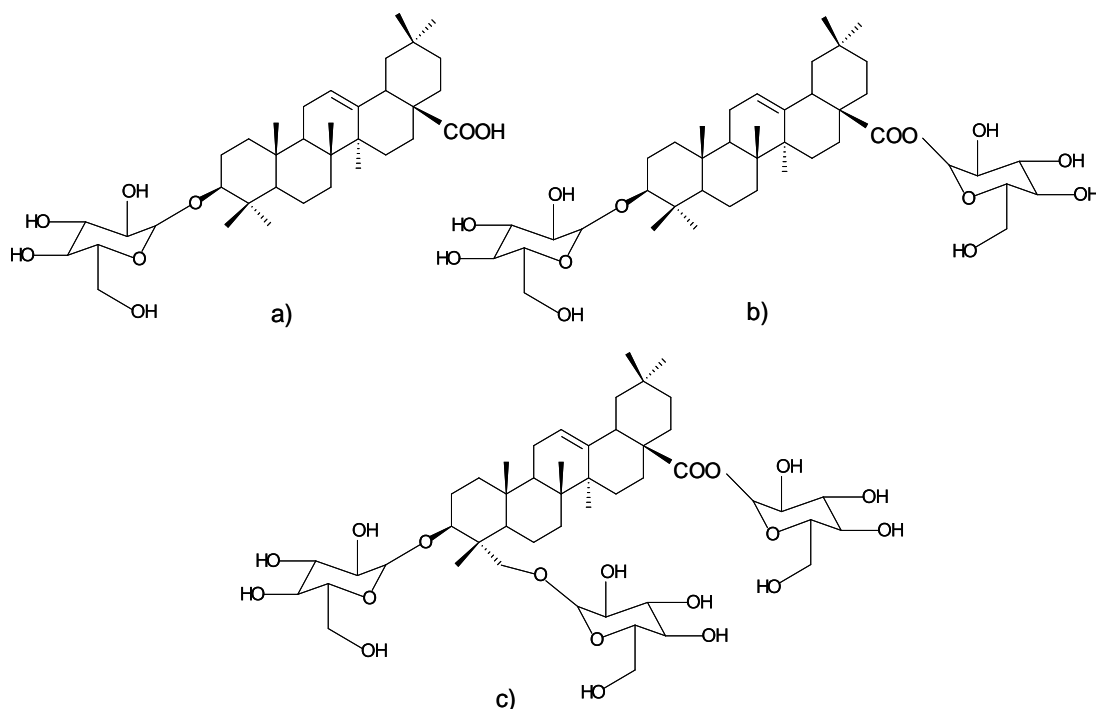
Las agliconas se transforman en treinta y un saponinas, al enlazar uno o varios glucósidos a la aglicona, que se ubican en diferentes partes de la planta como: flor, fruto, grano y cáscara. (Ver tabla 11).^(3, 37, 38)

Tabla 11: Saponinas en diferentes partes de la planta de quinua, flor (FI), fruto (F), grano (G), cáscara (C), la aglicona base y carbohidratos de cada una.^(3, 6, 39-41)

Compuesto	Localización	Aglicona	Sustituyente
1	FI, F, G, C	a	3-Glc-(1→2)-Ara, 28-Glc
2	G	a	3-GlcA
3	FI, F, G, C	a	3-GlcA, 28-Glc
4	FI, F, G, C	a	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
5	FI, F, G, C	a	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc
6	G	b	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc
7	FI, F, G, C	b	3-Ara
8	FI, F, G, C	b	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
9	G	b	3-Glc-(1→4)-Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc
10	FI, F, G, C	b	3-GlcA, 28-Glc
11	G	b	3-Gal-(1→3)-Glc, 28-Glc
12	FI, F, G, C	b	3-Glc-(1→3)-Gal, 28-Glc
13	FI, F, G, C	c	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
14	FI, F, G, C	d	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
15	FI, F, G, C	e	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
16	G	f	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
17	G	f	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
18	G	G	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
19	FI, F, G, C	g	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
20	G	g	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
21	FI, F, G, C	G	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
22	FI, F, G, C	G	3-Ara, 28-Glc
23	FI, F, G, C	G	3-GlcA, 28-Glc
24	FI, F, G, C	h	3-Glc-(1→3)-Gal, 28-Glc
25	FI, F, G, C	h	3-Ara, 28-Glc
26	G	H	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc
27	FI, F, G, C	H	3-Glc-(1→4)-Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc
28	FI, F, G, C	H	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
29	FI, F, G, C	H	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc
30	G	H	3-Glc-(1→3)-Ara

Dependiendo del número de sustituciones que tenga la aglicona con glucósidos, se les llama mono, di o triglicosilada (figura 6).

Figura 6: Estructuras de diversas saponinas. a) Saponina monoglicosilada, b) Saponina diglicosilada, c) Saponina triglicosilada



5.6.1.1 Métodos de extracción de saponinas en la quinua

El contenido de saponinas en la quinua, para que sea apta para el consumo humano, debe ser menor al 0,11%, por lo cual se han reportado diferentes métodos para la extracción como: lavados sucesivos con agua, perlado, reflujo, soxhlet, percolación, ultrasonido y microondas. En la tabla 12 se describe el fundamento de la técnica, con sus ventajas y desventajas.^(3, 8, 10)

Tabla 12: ventajas y desventajas de cada metodología de extracción de saponina

Metodología	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Ext %
Perlado	Se elimina la cascarilla por abrasión.	<ul style="list-style-type: none"> • Método verde • Fácil obtención de la cascarilla con la saponina • No uso de solventes • Fácil extrapolación a nivel industrial • Muy económico 	<ul style="list-style-type: none"> • Afecta el contenido nutricional • No extrae el total de saponinas 	73
Percolación	Disolver las saponinas, a través de la semejanza del soluto y del solvente.	<ul style="list-style-type: none"> • No hay consumo de energía • Alto porcentaje de extracción 	<ul style="list-style-type: none"> • Método no verde • Alto consumo de solvente • Tiempo de extracción (2 días) 	98
Reflujo Soxhlet	y Disolver las saponinas, a través de la semejanza del soluto y del solvente.	<ul style="list-style-type: none"> • Alto porcentaje de extracción 	<ul style="list-style-type: none"> • Método no verde • Alto consumo de energía • Alto consumo de solvente • Tiempo de extracción (4 a 72 horas) 	98
Ultrasonido	Se utilizan ondas mecánicas, para generar cavitación y destrucción de la pared celular.	<ul style="list-style-type: none"> • Método verde • Muy rápida extracción (30 minutos) • Alto porcentaje de extracción • Baja cantidad de solvente 	<ul style="list-style-type: none"> • No es fácil la extrapolación a nivel industrial • Alto costo de la maquinaria 	99
Microondas	Se utilizan ondas electromagnéticas no ionizantes, con un rango de 0,3 y 300GHz; la frecuencia utilizada, depende de diferentes factores como: temperatura, el tiempo, el solvente o la mezcla de solventes y la proporción solvente/masa de semilla	<ul style="list-style-type: none"> • Método verde • Muy rápida extracción (30 segundos) • Alto porcentaje de extracción • Baja cantidad de solvente 	<ul style="list-style-type: none"> • No es fácil la extrapolación a nivel industrial • Alto costo de la maquinaria 	99

5.6.1.2. Métodos de cuantificación de saponinas

Para la cuantificación de saponinas, existen diversas metodologías como: Liebermann - Burchard, hemólisis, cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) acoplada a un detector que puede ser el ultravioleta visible (UV-VIS), detector de arreglo de diodos (DAD), tiempo de vuelo (TOF), espectrómetro de masas (MS), entre otros. En la investigación realizada para cuantificar las saponinas, se utilizó el CLAR y Liebermann – Burchard.^(41, 42)

Con respecto a la estandarización del CLAR, se deben tener en cuenta algunos términos importantes que se muestran a continuación.

Exactitud: Expresa el grado de dispersión entre el valor que se acepta como un valor verdadero convencional o un valor de referencia aceptado y el valor encontrado.⁽⁴³⁾

Precisión: Expresa el grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas de un muestreo múltiple de la misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. La precisión puede considerarse en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.⁽⁴³⁾

Repetibilidad: Expresa la precisión en las mismas condiciones de operación en un corto intervalo de tiempo. La repetibilidad también se denomina precisión intraensayo.⁽⁴³⁾

Reproducibilidad: Expresa la precisión dentro de las variaciones de los laboratorios: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos, etc.⁽⁴³⁾

Límite de detección (LOD): Es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede detectarse pero no necesariamente cuantificarse como un valor exacto.⁽⁴³⁾

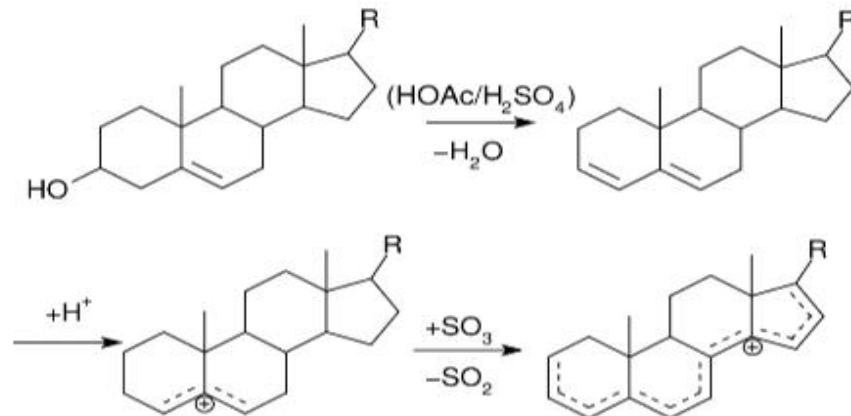
Límite de cuantificación (LOQ): Es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede determinarse cuantitativamente con la precisión y exactitud adecuadas.⁽⁴³⁾

Linealidad: Es la capacidad (dentro de un rango determinado) para obtener resultados de prueba que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra.⁽⁴³⁾

Rango lineal: Es el intervalo entre la concentración superior e inferior (cantidades) de analito en la muestra (incluidas estas concentraciones) para el cual se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad.⁽⁴³⁾

La metodología de Liebermann – Burchard, es una prueba colorimétrica con la cual se puede cuantificar sapogeninas, añadiendo una mezcla de ácido sulfúrico y anhídrido acético, eliminando agua y generando un doble enlace, que permite la cuantificación. (ver figura 7). En el caso de las saponinas, primeramente se debe desglucósidar con hidróxido de potasio para obtener sapogeninas y posteriormente se procede a cuantificarlas.⁽¹⁰⁾

Figura 7. Reacción de Liebermann-Burchard



5.6.1.3 Efectos biológicos

En la literatura se han reportado diferentes actividades biológicas de las saponinas como: la actividad hemolítica, antifúngicas, antiinflamatorias, antioxidantes y antibacterianas, usos que posibilitarian otra fuente de ingresos a los cultivadores.^(3, 10, 19)

Actividad hemolítica: una concentración elevada de saponinas monoglicosiladas, generan el rompimiento de la membrana celular de la hemoglobina. Debido a que imposibilita los procesos de intercambio a través de la misma, ya que las saponinas obstruyen los sitios donde se dan estos procesos. Con respecto a las saponinas di y triglicosiladas, tienen un efecto menor, ya que los glucósidos adicionales genera un impedimento estérico para la interacción entre la aglicona y la membrana celular.⁽¹⁰⁾

Actividad antiinflamatoria: la saponina ácido 3-O-β-D-glucopiranosil oleanólico, extraída de diferentes semillas como la *Randia dumetorum* Lam, y se encuentra en el grano de quinua, se ha reportado que a una concentración entre 25 y 100 mg/kg posee actividad en la fase exudativa y de proliferación de la inflamación.^(3, 37)

Yao y colaboradores en el 2014, reportaron que los extractos alcohólicos de saponinas de quinua cultivadas en China, reducen la producción de óxido nítrico (>25% con una concentración de saponinas de 100 µg/mL) e inhiben la liberación de citoquinas inflamatorias TNG-α y la IL-6 con concentraciones de 100 µg/mL. Esta actividad es atribuida a la hederagenina y a los ácidos serjánico y oleanólico.^(3, 44)

Actividad antifúngica: la mezcla de saponinas extraídas del *Allium Nigrum*, inhiben el crecimiento de hongos, hasta en un 70%.⁽⁷⁾ Un extracto de saponinas de quinua, inhibió el crecimiento de *Candida Albicans* con una concentración de 50 µg/mL, pero al hacer el estudio con las saponinas de manera individual, no tienen este efecto, por lo cual se sugiere un sinergismo entre ellas.^(7, 37)

Actividad antioxidante: Ilhami y colaboradores reportaron que 30 µg/mL de saponina 3-O-(β-D-glucopiranosil)-hederagenina inhiben el 95,3% de la peroxidación, superior al α-tocoferol y trolox, que inhiben el 88,8% y 86,2%, respectivamente.^(3, 45)

Actividad molusquicidad: Las saponinas de la quinua a 35 ppm actúan contra el *Pomacea canaliculata* (caracol manzana) evitando la afectación del cultivo de arroz, esta actividad se debe principalmente a las saponinas monoglicosiladas, por lo cual, se recomienda un pretratamiento alcalino de las saponinas, para transformar las saponinas di y triglicosiladas en monoglicosiladas.^(3, 46)

Actividad antibacteriana: se ha reportado que al extraer saponinas con metanol al 100%, inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*.⁽¹⁰⁾

5.7. Análisis estadístico de los resultados

Se emplea el método de comparaciones de datos independientes, para comparar dos o más poblaciones. Se debe tener en cuenta cinco parámetros que son: I) Las observaciones deben ser independientes entre sí. II) Las observaciones deben hacerse en poblaciones distribuidas normalmente. III) Las poblaciones deben tener homocedastacidad (igualdad de varianzas o varianzas conocidas). IV) Las variables correspondientes deben ser cuantitativas continuas. V) Cuando existen más de dos poblaciones comparadas, las medias de estas poblaciones normales y homocedásticas deben ser combinaciones lineales de efectos debidos a las columnas y a las filas o a ambos. Cuando estas condiciones se satisfacen, entonces se puede aplicar la prueba "t" o "anova", según sea el caso.⁽⁴⁷⁾

Cuando no se cumple alguno de estos casos, se puede realizar el análisis estadístico a través de pruebas no paramétricas, las cuales no son tan robustas como las paramétricas, pero en el caso que los datos no tengan un comportamiento normal, se pueden transformar, para convertirlos en datos normales.

5.7.1. Prueba de normalidad

Para comparar dos o más grupos de datos, es necesario examinar la normalidad de los mismos en todas las poblaciones. Tal normalidad, puede demostrarse

empleando algunas de las pruebas que existen al respecto: Anderson-Larning, Kolmogorov-Smirnov (con la corrección de Lilliefors) y Shapiro-Wilk, entre otras.

En nuestro caso, al tener menos de 30 datos, en todas las variables que se van a comparar, la prueba más adecuada es Shapiro-Wilk, donde la hipótesis nula es: Los datos no tienen una distribución normal. Para calcular el estadístico de contraste, se ordenan los valores de menor a mayor a través de la ecuación 1.⁽⁴⁷⁾

Ecuación 1:
$$w = \frac{1}{nS^2} (\sum a_{tn} x_{n-t+1} - x_t)$$

Dónde: **S** es la varianza muestral, **n** es el número de datos, **a** son datos que aparecen tabulados en los manuales.

La hipótesis nula se rechaza cuando se tiene un valor mayor que el dato que aparece en la tabla.

5.7.2. Prueba de varianzas iguales (Homocedasticidad)

Una vez comprobada la normalidad, se debe probar la homocedasticidad. Para este efecto existen pruebas lo suficientemente robustas, tales como la de Levene o la de Bartlett, entre otras. En nuestro caso se utilizó la prueba de Levene (ver ecuación 2). La hipótesis nula es: Hay diferencias significativas entre las varianzas de las variables.⁽⁴⁷⁾

Ecuación 2:
$$L = \frac{(n-k) \sum n_i (\bar{V}_i - \bar{V}_{..})^2}{(k-1) \sum \sum (V_{ij} - \bar{V}_i)^2}$$

Donde: *L* es el resultado de la prueba; *k* es el número de diferentes grupos a los que pertenecen los casos muestreados; *n* es el número total de casos en todos los grupos; *n_i* es el número de casos en el grupo *i*; $V_{ij} = |Y_{ij} - \bar{Y}_i|$; *Y_{ij}* es el valor de la variable medida para el *j*-ésimo caso del *i*-ésimo grupo; \bar{Y}_i es la media del *i*-ésimo grupo; $V_{..} = \frac{1}{n} \sum \sum V_{ij}$ es la media de *V_{ij}*; $V_{i.} = \frac{1}{n} \sum \sum V_{ij}$ es la media de *V_{ij}* para el grupo *i*; la significancia de *L* es probada contra *F*(α, *k*-1, *n*-*k*), donde *F* es un cuantil de la prueba *F* de distribución, los *k*-1 y *n*-*k*, son los grados de libertad, y α es la significancia.

5.7.3. Prueba T

Si las varianzas resultan iguales y los tamaños muestrales (esto es, el número n de participantes en cada grupo) son iguales, para determinar si hay o no diferencia significativa para dos variables, se aplica la prueba t-student específica para estos casos (ver ecuación 3). En caso contrario, si las varianzas resultan desiguales, se aplica una forma especial de la prueba t, la cual es la t' -student (ver ecuación 4).⁽⁴⁷⁾

Ecuación 3:
$$T = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}_j}{\sqrt{\frac{1}{2}(S_{X_i}^2 + S_{X_j}^2)} \cdot \sqrt{\frac{2}{n}}}$$

Dónde: S es la desviación estándar; n es el número de datos; \bar{X}_i promedio de la variable i; \bar{X}_j promedio de la variable j;

Ecuación 4:
$$t = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}_j}{\sqrt{\frac{S_i^2}{n_i} + \frac{S_j^2}{n_j}}}$$

5.7.4. Prueba Anova

Es una técnica estadística que sirve para decidir o determinar si las diferencias que existen entre las medias de tres o más grupos son estadísticamente significativas. Esta técnica se basa en la partición de la varianza para establecer si la varianza explicada por los grupos formados es suficientemente mayor que la varianza residual o no explicada (ver ecuación 5), donde la hipótesis nula es: las medias de k poblaciones ($k > 2$) son iguales.⁽⁴⁷⁾

Ecuación 5:
$$F = \frac{(N-t)n_i \sum (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{(t-1) \sum \sum (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}$$

Donde: N es el número total de datos a analizar; n_i es el número de datos en la variable i-ésimo; \bar{y}_i es el valor promedio de la variable i-ésimo; \bar{y} es el valor promedio de todos los datos; y_{ij} es el valor de la variable medida para el j-ésimo caso del i-ésimo grupo; t es el número total de datos de cada variable.

5.7.5. Prueba Tukey

Esta prueba estadística, es una prueba que se utiliza posterior al análisis de varianzas, cuando hay una diferencia significativa, ya que el anova no me determina entre que grupos hay la diferencia, por lo cual es necesario utilizar la prueba tukey, que me facilita determinar entre que grupos hay diferencias (ver ecuación 6 y 7), donde la hipótesis nula es que las medias aritméticas son iguales.⁽⁴⁷⁾

$$\text{Ecuación 6: } q = \frac{Y_{\max} - Y_{\min}}{\sqrt{\frac{CME}{r}}}$$

Siendo Y_{\max} y Y_{\min} la mayor y la menor medida respectivamente

$$\text{Ecuación 7: } w = q \sqrt{\frac{CME}{r}}$$

Donde. q es el valor obtenido de la tabla tukey; $CME = \frac{\sum \sum (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{(N-t)}$; N es el número total de datos a analizar; N , t , \bar{y}_i , y_{ij} (ver significado en sección 5.7.4); r es el número de repeticiones.

5.7.6. Prueba de Mann Whitney

En la prueba de Mann Whitney se comparan 2 grupos independientes y que no tienen distribución normal o que sean ordinales, paralela a la prueba t de contraste para muestras independientes. Contrasta si dos poblaciones muestreadas son equivalentes en su posición. La hipótesis nula del contraste es que las dos muestras, de tamaño n_1 y n_2 , respectivamente, proceden de poblaciones continuas idénticas: $H_0 = f_1(x) = f_2(x)$.⁽⁴⁷⁾

Para calcular el estadístico U , se utiliza la ecuación 8, y se coge el mínimo valor.

$$\text{Ecuación 8: } U_i = n_1 n_2 + \frac{n_i(n_i+1)}{2} - R_i \text{ donde } i = 1, 2$$

Donde: U_i es el estadístico; n_i es el tamaño de la muestra i -ésima; R_i es la suma de los rangos de la muestra i -ésima

Se determina la Z (ver ecuación 9) y se compara con la respectiva tabla

Ecuación 9:
$$Z = \frac{U - m_U}{\delta_u}$$

Donde:
$$m_U = \frac{n_1 n_2}{2} \quad \delta_u = \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}$$

5.7.7. Prueba de Kruskal Wallis

Es un método no paramétrico para determinar si un grupo de datos provienen de una misma población o de diferentes. Intuitivamente, es idéntico al anova con los datos reemplazados por categorías. Es una extensión de la prueba de la U de Mann Whitney para 3 o más grupos. Ya que es una prueba no paramétrica, la prueba de Kruskal-Wallis no asume normalidad en los datos, en oposición al tradicional Anova. Se asume, bajo la hipótesis nula, que los datos vienen de la misma distribución.⁽⁴⁷⁾

El estadístico está dado por la ecuación 10.

Ecuación 10:
$$K = (N - 1) \frac{\sum_{i=1}^g n_i (\bar{r}_i - \bar{r})^2}{\sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^{n_i} (r_{ij} - \bar{r})^2}$$

Dónde: n_i es el número de observaciones en el grupo i-ésimo; r_{ij} es el rango de la observación j en el grupo i-ésimo; N es el número total de observaciones entre todos los grupos; $\bar{r}_i = \frac{\sum_{j=1}^{n_i} r_{ij}}{n_i}$; $\bar{r} = \frac{N+1}{2}$; finalmente, el valor a evaluar es aproximado por $Pr(X_{g-1}^2 \geq K)$.

5.8. Diseño de bloques aleatorizados

En los diferentes estudios, algunos factores no se pueden controlar, como la presión, temperatura, lluvias entre otras, pudiéndose generar una tendencia en los resultados. Cuando hay muchos errores a lo largo del tiempo, estos dejan de ser aleatorios, conduciendo a posibles errores sistemáticos en los resultados. Por lo cual es necesario realizar un diseño que minimice este tipo de errores, el cual es el de bloques aleatorizados, donde el objetivo principal es el de maximizar las

diferencias entre bloques y minimizar las diferencias dentro de los bloques, además de que todos los tratamientos se les deben realizar a todos los bloques y no es necesario que tengan el mismo tamaño. Un punto muy importante, es que el bloque y el tratamiento no tengan interacción entre ellos. Para realizar los bloques se puede disponer de una tabla de doble entrada (ver tabla 13). El análisis de la varianza de los bloques aleatorizados se hayan de en la tabla 14.⁽⁴⁷⁾

Tabla 13: Diseño de bloques aleatorizados

Tratamiento	Bloques					
	1	2	...	j	...	J
1	Y_{11}	Y_{12}	...	Y_{1j}	...	Y_{1J}
2	Y_{21}	Y_{22}	...	Y_{2j}	...	Y_{2J}
.
.
.
I	Y_{i1}	Y_{i2}	...	Y_{ij}	...	Y_{iJ}
.
.
.
I	Y_{I1}	Y_{I2}	...	Y_{Ij}	...	Y_{IJ}

Tabla 14: anova para el modelo de bloques aleatorizados.⁽⁴⁷⁾

Fuente variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F_{exp}
Entre tratamientos	$J \sum (\bar{y}_i - \bar{y}_{..})^2 = SCTr$	$I - 1$	S_{Tr}^2	S_{Tr}^2 / S_R^2
Entre bloques	$I \sum (\bar{y}_j - \bar{y}_{..})^2 = SCBl$	$J - 1$	S_{Bl}^2	S_{Bl}^2 / S_R^2
Residual	$SCT - SCTr - SCBl = SCR$	$(I - 1)(J - 1)$	S_R^2	
Total	$\sum \sum (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2 = SCT$	$IJ - 1$	S_T^2	

IJ es el número total de datos a analizar; I es el número de datos de la variable i -ésimo; J es el número de datos del bloque j -ésimo; \bar{y}_i es el valor promedio de la variable i -ésimo; \bar{y}_j es el valor promedio de la variable j -ésimo; $\bar{y}_{..}$ es el valor promedio de todos los datos; y_{ij} es el valor de la variable medida para el j -ésimo caso del i -ésimo grupo.

En nuestro caso, se utilizó el diseño de bloques aleatorizados, para determinar si el porcentaje de perlado y la altura a la que se encuentran los cultivos afecta significativamente en las variables respuesta (humedad, ceniza, proteína grasa, saponinas, entre otras).

6. METODOLOGÍA

6.1. Muestreo

Las muestras de quinua del ecotipo blanca de Jericó, se obtuvieron del municipio de Bolívar - Cauca, haciendo un muestreo en seis fincas de tres zonas de producción, ubicadas a 2000, 2500 y 3000 msnm, se escogiendo 10 muestras aleatorias de 100 g para tener una muestra compuesta de 1 kg como se ve en la diagrama 1. La evaluación botánica de la planta se hizo en el herbario CUCV de la Universidad del Valle.

La finca 1 ubicada a 2000 msnm se encuentra ubicada en las coordenadas 1,738°, -77.023°, la finca 2 se encuentra también a 2000 msnm y está ubicada en la coordenadas 1,740°, -77,025°.

La finca 3 ubicada a 2500 msnm se encuentra en las coordenadas 1,683°, -76,867°, la finca 5 se encuentra a 2500 msnm y está ubicada en la misma vereda, pero con coordenadas 1,663°, -76,876°.

La finca 5 ubicada a 3000 msnm se encuentra en las coordenadas 1,8256°, -76,954°, la finca 6 se encuentra a 3000 msnm y está ubicada en la misma vereda, pero con coordenadas 1,837°, -76,952°.

Diagrama 1. Plantilla de muestreo

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60

Todo el proceso metodológico realizado a la quinua obtenida, se presenta en el diagrama 2.

6.2 Proceso de perlado.

El proceso de eliminación de la capa externa de la quinua, se llevó a cabo en una máquina perladora TM-05 (Taka-Yama) y 10 g de muestra; teniendo en cuenta

dos variables: Porcentaje de abrasión (10%, 30%, y 50%); adicionalmente se empleó como blanco la muestra inicial sin tratar que se asume como 0% y zona de muestreo (2000, 2500 y 3000 msnm) y se hizo un diseño 4x3 (tabla 15).

Diagrama 2: diagrama de flujo del procedimiento realizado.

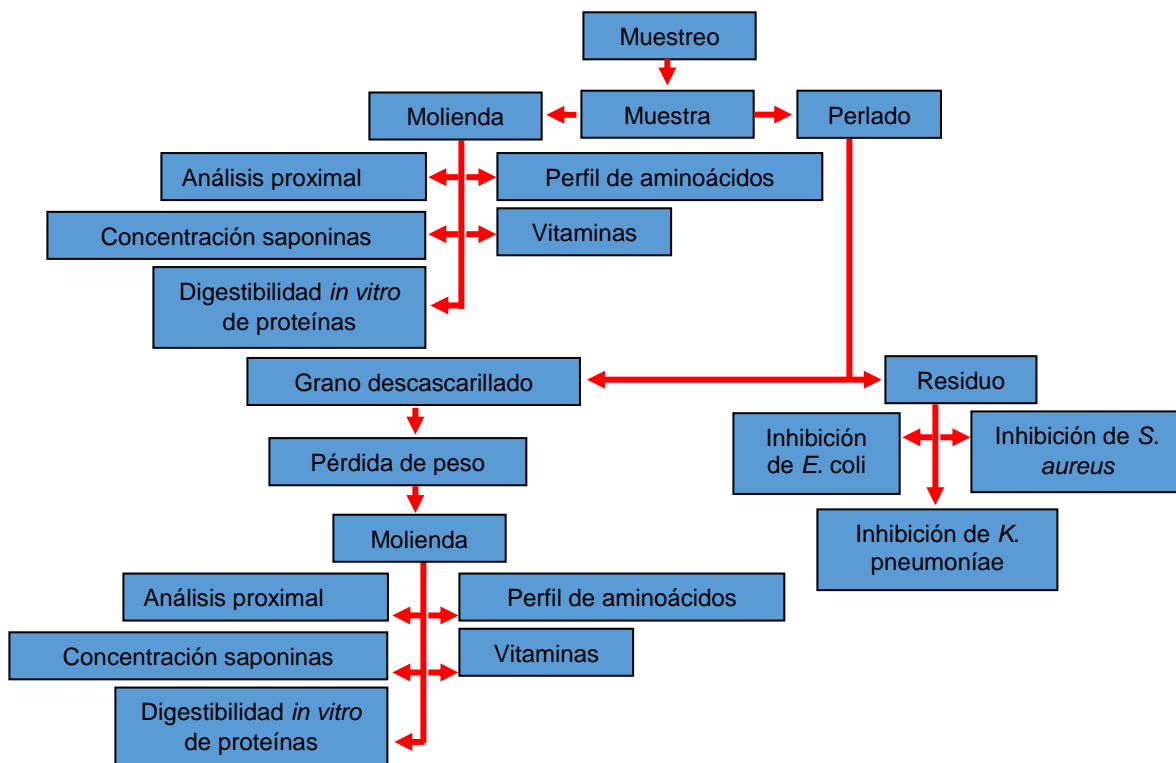


Tabla 15: Diseño experimental MxN

Zona (msnm)	Perlado (%)			
	0	10	30	50
Z1 = 2000	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄
Z2 = 2500	E ₂₁	E ₂₂	E ₂₃	E ₂₄
Z3 = 3000	E ₃₁	E ₃₂	E ₃₃	E ₃₄

La máquina separó el grano descascarillado y el residuo, donde al grano descascarillado se le determinó el contenido de saponinas, la composición proximal, vitaminas, perfil de aminoácidos, digestibilidad *in vitro* y la pérdida de peso. Al residuo se le realizaron las siguientes pruebas biológicas: inhibición de

Escherichia coli (*E. coli*), inhibición de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e inhibición de *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*).

6.3. Pérdida de peso.

Se pesó el grano descascarillado en una balanza analítica y la pérdida de peso se calculó con la ecuación 11.

Ecuación 11: $Perdida\ peso = peso\ inicial - peso\ final$

6.4 Molienda.

Todas las muestras del diseño experimental, se procesaron con un molino para granos universal L14200.

6.5. Análisis proximal.

El análisis proximal, se realizó por triplicado de acuerdo a los métodos que se reportan en la tabla 16.

Tabla 16: Análisis proximal del grano de quinua.

Componente	Descripción	Método
Humedad	Deshidratación a 100-105°C en estufa a presión constante hasta peso constante	AOAC 950.43 ⁽⁴⁸⁾
Ceniza	Calcinación a 550°C por 4 horas	AOAC 991.36 ⁽⁴⁹⁾
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet por 4 horas	AOAC 920.153 ⁽⁵⁰⁾
Proteína bruta	Kjeldahl: Digestión ácida y destilación de nitrógeno (N x 6.25)	AOAC 968.06 ⁽⁵¹⁾ (adaptado)
Fibra bruta	Weende: Digestión ácido-base y calcinación	AOAC 962.09 ⁽⁵²⁾
Extracto nitrogenado (ENN)	no Por diferencia (100% – componentes anteriores)	

6.6. Perfil de aminoácidos.

A los doce experimentos, se determinó el contenido de aminoácidos, por el método Pico-Tag® de la empresa Waters. La preparación de la muestra se realizó en tres etapas: 1) Hidrólisis de la proteína, 2) Derivatización de los aminoácidos, 3) Separación y cuantificación por cromatografía, de acuerdo a los procedimientos

descritos en el manual del operador Pico-Tag (Millipore Corp, Milford, MA, 1990).⁽⁵³⁾

Todo el proceso se realizó una sola vez para cada uno de los doce experimentos del diseño experimental, debido a los costos que se tenía.

6.7. Digestibilidad *in vitro* de proteínas

La determinación de la digestibilidad *in vitro* se realizó siguiendo lo establecido en la norma técnica colombiana NTC 719⁽⁵⁴⁾ y haciendo algunas modificaciones (Se cambió el antibiótico y el tiempo de precipitado de la proteína al final de la segunda etapa) de lo reportado por Miller *et al.* 1997.⁽⁵⁵⁾ La simulación de la digestibilidad *in vitro* de proteínas se da en 2 etapas:

Etapa 1: Simulación de la digestión gástrica: A 0,5 g de la muestra seca y molida de los doce casos del diseño experimental, se le adicionaron 25 mL de solución tampón fosfato 0,1 M a pH=6, posteriormente se agitó y agregó 10mL de HCl 0,2 N; luego se ajustó a pH=2 con solución de HCl 1N y NaOH 1N. Posteriormente se agregó 25 mg de pepsina y 1mL de cloranfenicol para evitar el crecimiento bacteriano, seguido de una incubación por 2h a 39°C con agitación constante en el equipo shaker SK-D3309-Pro-LB Pro.

Etapa 2: Simulación de la digestión post-gástrica: Después de terminar la primera etapa de incubación, se agregó 10 mL de solución tampón fosfato 0,2 M a pH 6,8 y 5 mL de NaOH 0,6M y se ajustó el pH a 6,8, con soluciones de HCl 1N y NaOH 1N. Posteriormente, se agregó 100 mg de pancreatina y se dejaron en incubación por 4 h. Terminado el tiempo de incubación, se dejaron las muestras a temperatura ambiente y se agregó 5mL de ácido tricloroacético para precipitar las proteínas ligeramente solubles que quedaron sin ser digeridas, por un tiempo de 30 min. Posteriormente, se centrifugó y se separó la proteína residual que no fue digerida con hexano, y se llevó a secar a 40°C por 12 h. Finalmente, se determinó el contenido proteico del residuo por el método Kjeldahl AOAC 968.06⁽⁵¹⁾. El cálculo de digestibilidad se realiza mediante la Ecuación 12.

Ecuación 12:
$$D(\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

Donde: P_1 es la concentración de proteína que hay en la muestra cruda y P_2 es la concentración de proteína que hay en el residuo que no fue digerido que se determinó por el método Kjeldahl AOAC 968.06⁽⁵¹⁾.

Todo el proceso se realizó una sola vez para cada uno de los doce experimentos del diseño experimental, debido a los costos que se tenía.

6.8 Determinación y cuantificación de saponinas por CLAR-DAD

El material seco y molido, se procedió a desengrasar con n-hexano (grado analítico CAS110-54-3), a temperatura ambiente por 24 horas en una relación 1 a 4 masa/solvente. A continuación se realizó una extracción con una solución de etanol al 60%, por percolación en un frasco ámbar por dos días, repitiendo en dos ocasiones el proceso. Los extractos se unieron y se eliminó la mayor cantidad de solvente por rotaevaporación (Buchi R-215 rotavapor system), el material concentrado se pasó por las resinas de intercambio iónico Lewatit MonoPlus S 108 H y Lewatit M500, en ese orden. El eluato acuoso se pasó luego a través de Sephadex LH-20. Una vez obtenidas las saponinas crudas, se cuantificó por CLAR-DAD, usando los parámetros de la estandarización, que se presentan más adelante (ítem 6.9), Usando como patrones las saponinas 29 y 30 de la tabla 11. El resto de saponinas se cuantificaron, teniendo en cuenta el área debajo de la curva de cada saponina y relacionándola con la de las saponinas de los patrones utilizados. El cálculo del porcentaje de saponinas, se realizó mediante la ecuación 13.⁽⁵⁶⁾

Ecuación 13:
$$\%Saponinas = \frac{\sum S}{P} \times 100\%$$

Donde: $\sum S$ es la suma de la cantidad de saponinas determinadas que hay en el grano y P el peso inicial de quinua utilizada.

En el CLAR-DAD se utilizó una columna analítica Zorbax Eclipse XDB-C8 4,6x150mm. El flujo utilizado fue a gradiente a una velocidad de 1mL /min de la

siguiente manera: de 0 – 3,6 min (0% a 20% Metanol), de 3,6 – 10,0 min (20% metanol), de 10,0 – 20 min (20% a 100% metanol), del 20 – 30 min (100% metanol) y del 30,0 – 32,0 (100% al 0% de metanol). El detector se colocó a una longitud de onda de 210nm.

6.9. Estandarización CLAR-DAD para cuantificación de saponinas

Para la estandarización y cuantificación de las saponinas, se utilizaron dos saponinas como patrones, el ácido 3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc fitolacagénico (saponina 10) y ácido 3-Glc-(1→3)-Ara fitolacagénico (saponina 16)

Para determinar la fase móvil, el flujo, la longitud de onda y el rango lineal nombrados anteriormente, se procedió a seguir los procedimientos internos del laboratorio Quantar.

Para los demás parámetros, se detallan a continuación los procedimientos realizados.

Límite de detección, se determinó con la formula $LOD=3S/R$, donde R es el ruido que genera el CLAR, es decir la línea base, y S es la señal que se obtiene al medir la señal que genera el blanco, que en nuestro caso es la solución de etanol al 60%, realizando los diferentes procesos previos y se midió su señal. Para el LOQ, se realizó un proceso muy parecido, solo que se multiplica por 10, en vez de tres.⁽⁵⁶⁾

Para determinar la precisión del método, se realizó a través del coeficiente de variación (CV) de la cuantificación de las saponinas. Se preparó una solución de 50mg/mL del ácido 3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc fitolacagénico en agua y otra de 75 mg/mL del ácido 3-Glc-(1→3)-Ara fitolacagénico, también en agua y se cuantificaron 5 veces cada una, después se determinó la precisión a través de la ecuación 14.

Ecuación 14: $CV = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$

Donde S es la desviación estándar y \bar{X} el promedio de la concentración de la saponina

La repetibilidad: se preparó una curva de calibración de cinco puntos para la saponina 10 (0,009, 0,014, 0,019, 0,024 y 0,030 mg/mL) y para la saponina 16 (0,015, 0,018, 0,021, 0,024 y 0,027 mg/mL), se cuantificaron 6 veces la muestra problema (Extracto de saponinas del grano entero de quinua) en el CLAR-DAD, trabajando siempre en las mismas condiciones (equipo, materiales, reactivos, el mismo analista, mismo día) y se determinó el porcentaje de error, por medio de la ecuación 15.

Ecuación 15: $\% \text{ error} = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$

La reproducibilidad: se preparó una muestra de cada patrón con una concentración de 15 mg/mL para la saponina 10 y 18 mg/mL para la saponina 16, se cuantificaron 6 veces en el CLAR-DAD, en tres días diferentes y con tres analistas diferentes con el mismo método y condiciones similares y se determinó el porcentaje de error, por medio de la ecuación 15.

6.10. Cuantificación de saponinas por Liebermann-Burchard

A los granos seco y molidos, se le adicionaron 2,5 mL KOH (1,32% alcohólico), y se dejó en baño maría equipo Novatech (37 - 40 °C) por 55 minutos; después se le adicionó 5 mL de éter de petróleo, se mezcló y se agregó 2,5 mL de agua destilada y se centrifugó a 1000 rpm en una centrifuga Wise Spin, a la fracción orgánica se le evaporó el solvente en un baño maría a 60 °C y se dejó enfriar. Cuando se alcanzó la temperatura ambiente, se le adicionaron 3 mL del reactivo de Liebermann-Burchard (anhídrido acético/ácido sulfúrico 10:2) y se leyó a una longitud de onda a 620nm a los 30 minutos, en un espectrofotómetro Genesys 6. (Ver figura 7).

Se compararon los resultados obtenidos de los doce experimentos del diseño experimental de esta metodología con los obtenidos por CLAR-DAD, utilizando la prueba t para datos emparejados (ver ecuación 16).

Ecuación 16:
$$t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{S}$$

Dónde: \bar{d} es el promedio de las diferencias entre ambas metodologías, S es la desviación estándar y n es el número de experimentos.

6.11. Determinación de vitaminas

6.11.1. Vitaminas del complejo B

Para la determinación de la cianocobalamina, se tomaron 10 g de muestra seca y molida, se añadieron 50 mL de agua y una solución de cianuro de sodio al 1%, ajustando el pH entre 4,6 – 5,0 y colocando en baño de agua a 60°C por una hora. La purificación del extracto se realizó, añadiendo un exceso de acetona y centrifugando a 3000 r.p.m. durante 5 min; se recolectó el sobrenadante y se evaporó en rotaevaporador (Buchi R-215 ratavapor system) para eliminar la acetona remanente, filtrando con papel filtro y llevando a 20 mL de agua.

Para el análisis del resto de las vitaminas (tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, nicotinamida), se pesaron 50 g de muestra y se adicionaron 60 mL de HCl 0,1 N. La muestra se calentó entre 80 - 100°C en un baño maría Novatech por una hora, adicionando posteriormente una solución de diastasa recientemente preparada (1 mg en 15 mL de agua) y ajustando el pH a 4.5, manteniéndolo a 37°C en un baño maría Novatech durante 4 horas. La muestra se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 5 min, una centrifuga Wise Spin, filtrando el sobrenadante y añadiéndole un exceso de acetona. Se centrifugó nuevamente a las mismas condiciones, y se evaporó en rotaevaporador para eliminar el exceso de acetona y llevando a 20 mL con HCl 0,1 N.

Los patrones de tiamina, piridoxina, cianocobalamina, ácido nicotínico y nicotinamida se emplearon a una concentración de 0,5 mg/mL y el de riboflavina a 0,05 mg/mL, todos en solución de HCl 0.1 N.

Para la determinación de las vitaminas hidrosolubles, se utilizó el CLAR. Que consistió en bombas marca Pharmacia LKB, modelo 2248 (Uppsala, Sweden),

inyector manual Rheodyne equipado con reguladores de volumen de 20 y 100 μL , columna Spherisorb ODS-2 (250 X 4.6 mm I.D., 5 μm), así como un detector DAD (marca Pharmacia LKB-Bromma), modelo 2140 (Uppsala, Suecia) programado a una longitud de onda de 362 nm para la cianocobalamina y 270 nm para el resto de las vitaminas. El sistema cromatográfico fue controlado mediante el sistema CLAR manager version 3.01 de Pharmacia LKB, Biotechnology AB (Uppsala, Suecia). La integración de los picos se realizó por la versión 5.0 del programa Nelson.

La fase móvil para el análisis de Cianocobalamina fue: metanol/ agua/ ácido fosfórico 0,1 mol/L (20:79,5:0,5). Flujo: 0,8 mL/min.

La fase móvil para tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, nicotinamida fue: metanol/ agua/ ácido fosfórico 0,1 mol/L (30:69,5:0,5) en hexanosulfonato de sodio. Flujo: 0.8mL/min.

6.11.2. Vitaminas liposolubles.

En un tubo falcon (50 mL), se pesaron 2,0 g de muestra previamente homogeneizada. Se adicionaron 4 mL de etanol más 1 mL de solución de ácido ascórbico al 10% (p/v) y se agitó a 1.700 rpm durante 1 h en rotatubos (Heidolph Multi Reax). Se añadió lentamente 1 mL de hidróxido de potasio al 50% (p/v) se agito nuevamente a 1.700 rpm por 1min. La muestra se saponificó a 70°C en un baño termorregulador durante 30 minutos (Lab. Companion CW-20G); se enfrió rápidamente hasta alcanzar temperatura ambiente. Luego se centrifugó (Germany PLC-025) a 4000 rpm por 1 min, traspasando la fase superior a otro tubo falcon. Se adicionaron 4 mL de solución etanol/agua (3:1) directamente a la parte posterior de la muestra, se agito en el rotatubos a 1.700 rpm por 2 min y se centrifugó durante 1 min a 4.000 rpm. La fase superior se juntó con la recolectada anteriormente en el tubo falcon y se adicionaron 2 mL de solución de cloruro de sodio saturado y 4 mL de hexano; esto se agitó vigorosamente a 1.700 rpm por 1 min. Se extrajo el hexano y se traspasó a un tubo falcon, Posteriormente se realizaron dos extracciones más con 4 mL de hexano cada una, juntando cada

extracción con la anterior. Las fases recolectadas, se lavaron con volúmenes pequeños de agua desionizada entre 5 y 15 mL, hasta alcanzar pH neutro. Se centrifugó a 4.000 rpm por 1min. La fase superior se recuperó y se llevó a sequedad bajo corriente de Nitrógeno por un minuto, se redisolvió con 1 mL de fase móvil más 1 mL de estándar interno (colecalfiferol (vitamina D3) (50 ppm) ó ergocalciferol (vitamina D2) (25 ppm)). Después de haber recuperado la muestra, esta es inyectada en el equipo. En la tabla 17 están las condiciones del CLAR.

Tabla 17: condiciones del CLAR para las vitaminas liposolubles.

Fase móvil	Metanol/Agua desionizada (91/9 v/v)
Flujo	1,0 mL/min
Columna	ODS C18 (4,6x250 mm), 5µm de tamaño de partícula
Detección	UV con arreglo de Diodos
Longitud de onda	Vitamina A (325 nm) Vitamina D2 y D3 (265 nm) Vitamina E (280 nm)
Temperatura Columna	30°C
Modo	Isocrático
Volumen de Inyección	20 mL
Tiempo de retención (Vitamina A)	6,035 minutos
Tiempo de retención (Vitamina D2 y D3)	19,802 y 21,360 minutos respectivamente
Tiempo de retención (Vitamina E)	23,413 minutos

6.12. Inhibición bacteriana de las saponinas.

El residuo que se obtienen del proceso de perlado, se le realizó el mismo proceso que se mencionó en el ítem 6.8. A continuación, se realizó soluciones de 0,5 mg/mL 1,0 mg/mL 2,5 mg/mL y 5,0 mg/mL del extracto obtenido en agua.

Para la investigación se adquirieron las cepas comerciales *Staphylococcus aureus* ATCC 13245, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1705 y *Escherichia coli* ATCC 2346. Las cepas se reconstituyeron en agar, para lo cual se siguieron las instrucciones

del fabricante.⁽¹⁰⁾ Para conservar las bacterias se realizó una siembra en medio sólido cada 5 días. El medio sólido fue diferente para cada especie: *S. aureus*, agar manitol; *Klebsiella pneumoniae*, agar tripticasa de soya *Escherichia coli*, agar McConkey. Las cepas se incubaron a 37°C en una estufa de laboratorio UN30PLUS durante 24 horas, y luego fueron refrigeradas a 4°C, en una nevera de laboratorio Biotech S.L. hasta su utilización.

En seis cajas de petri con 5 mL de agar, y 0,1 mL de la bacteria, se les incorporó un discos cortados con un diámetro de 0,6 mm, de papel filtro 595 marca s & s 150mm. Ref-No. 311612 que ya habían sido impregnados con 10µl de sus respectivos tratamientos (Antibiótico, 0,5 mg/mL 1,0 mg/mL 2,5 mg/mL, 5,0 mg/mL), además de un papel filtro sin impregnarle nada, se procedió a agitar cada uno de estos sobre un vortex (Thermo Scientific™, agitador vortex). Luego de terminado todo el procedimiento anterior, se incubaron a 37 °C en una estufa de laboratorio UN30PLUS durante siete días.

Los antibióticos utilizados fueron: nitrofurantoína para *E. coli*, ceftriaxona para *K. pneumoniae* y vancomicina para *S. aureus*.

La sensibilidad del patógeno a los extractos, se estableció por el tamaño del halo del control negativo y positivo, medida que se hizo con un calibrador o pie de rey en milímetros, registrando tres mediciones diferentes y promediándolas. Como se muestra la ecuación 17.

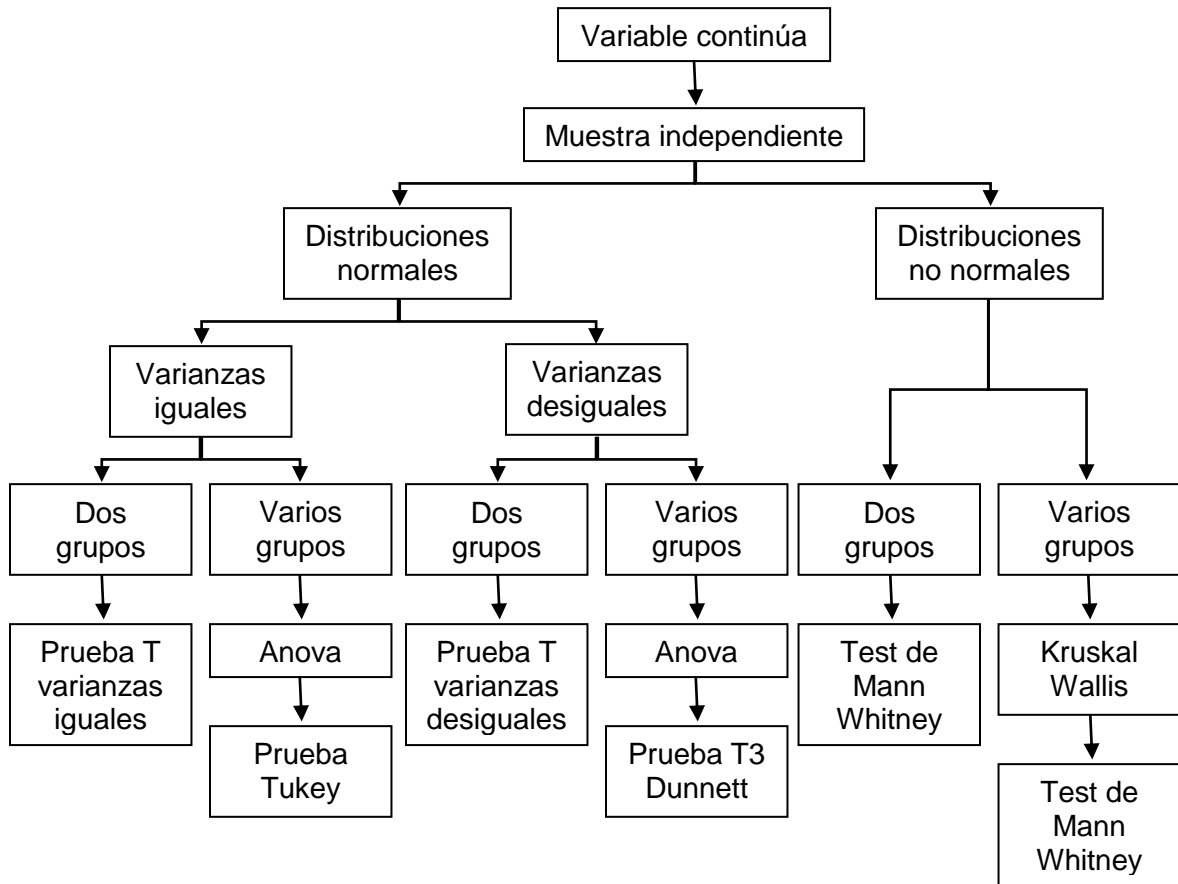
Ecuación 17: $mm \text{ de inhibición} = Z_1 - Z_2$

Donde Z_1 es los mm de la bacteria sin saponinas y Z_2 los mm de la bacteria con saponinas.

6.13. Procedimiento del análisis estadístico

Para determinar si hay o no hay diferencias significativas entre los diversos niveles de las variables que se utilizaron, se procede a utilizar el esquema del diagrama 3.

Diagrama 3: Proceso para determinar si en dos o más niveles de las variables independientes hay o no diferencias significativas.



Cuando las variables son continuas e independientes entre ellas, por lo cual, se procede a realizar la prueba de Shapiro-Wilk; si el $P_{valor} \geq 0,050$, indica que las variables tienen un comportamiento normal, entonces se procede a realizar la prueba de Levene; si el $P_{valor} \geq 0,050$, indica que la varianzas son homocedasticas. A continuación se tiene en cuenta, la cantidad de niveles de la variable. Si son dos niveles; se procede a realizar la prueba T con varianzas iguales; si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa. Pero en el caso que la variable tenga tres o más niveles, se realiza la prueba Anova, si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa, pero en el caso de que el $P_{valor} < 0,050$, se procede a realizar la prueba Tukey, la cual me determina entre que niveles hay una diferencia significativa cuando el $P_{valor} < 0,050$.⁽⁴⁷⁾

En el caso de que la prueba de Levene de un $P_{valor} < 0,050$ y la variable tenga dos niveles, se usa la prueba T para las varianzas desiguales; si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa. Si la variable tiene tres o más niveles se procede a realizar la prueba Anova para varianzas heterocedásticas; si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa, pero en el caso de que el $P_{valor} < 0,050$, se procede a realizar la prueba T3 de Dunnett, la cual me determina entre qué niveles hay una diferencia significativa cuando el $P_{valor} < 0,050$.⁽⁴⁷⁾

Cuando las variables no tienen un comportamiento normal, se usan pruebas no paramétricas; en el caso de la variable que tiene dos niveles, se realiza el test de Mann Whitney; si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa. Si la variable tiene tres o más niveles se procede a realizar la prueba de Kruskal Wallis; si el $P_{valor} \geq 0,050$, no hay una diferencia significativa, pero en el caso de que el $P_{valor} < 0,050$, se procede a realizar el test de Mann Whitney, pero en este caso se realiza la comparación de los niveles de dos en dos.⁽⁴⁷⁾

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.1. Análisis de la clasificación de la quinua.

El herbario de la Universidad del Valle determinó que en las seis fincas seleccionadas, de donde se obtuvieron los granos de quinua, las plantas son del ecotipo “Blanca de Jericó”, por lo cual nos permitió tener la certeza que los posibles cambios en la composición que se dan entre las diferentes fincas, son independientes del ecotipo.



7.2. Análisis de la pérdida de peso en las muestras perladas.

En la tabla 18, los experimentos E₁₂, E₂₂ y E₃₂, aunque tienen el 10% de abrasión, el porcentaje de eliminación del grano, presenta variaciones entre 1,1 y 1,4%. Este comportamiento se da, por, la altura, ya que a mayor altura, disminuye el volumen del grano, teniendo más área, donde se puede realizar el perlado; Este mismo comportamiento se tiene a 30 y 50%.

Un punto muy importante, es que se pierde máximo un 5,3% de la masa, pero su precio comercial se incrementa en un 50%, pasando de \$6000 a \$9000. De aquí la ventaja de este proceso, debido a ello se debe garantizar que el grano de quinua perlado, tenga una concentración menor de 0,11% de saponinas y las mejores condiciones nutricionales, ya que se podría incrementar aún más el precio y buscar una utilidad al residuo, que no se aprovecha en el momento.

Tabla 18: Pérdida de peso del grano de quinua durante el proceso de perlado.^a

Exp	% perlado	Peso inicial	Peso final (g)	Pérdida de peso (g)	Porcentaje (%)
E ₁₁	0	10,0205	10,0205	0,0000	0,0
E ₁₂	10	10,0354	9,9045	0,1309	1,3
E ₁₃	30	10,0528	9,7411	0,3117	3,1
E ₁₄	50	10,0334	9,5016	0,5318	5,3
E ₂₁	0	10,0107	10,0107	0,0000	0,0
E ₂₂	10	10,0257	9,9150	0,1107	1,1
E ₂₃	30	10,0783	9,7457	0,3326	3,3
E ₂₄	50	10,0114	9,4887	0,5227	5,2
E ₃₁	0	10,0163	10,0163	0,0000	0,0
E ₃₂	10	10,0451	9,9015	0,1436	1,4
E ₃₃	30	10,0785	9,7415	0,3370	3,3
E ₃₄	50	10,0164	9,4855	0,5309	5,3

^a Incertidumbre 0,0001g

A continuación se muestran fotos del grano de quinua entero, descascarillado al 30%, el residuo y la maquina perladora.



7.3. Análisis del efecto de perlado en la composición proximal.

En la tabla 19 se muestra la composición proximal de la quinua analizada, donde se observa, que el porcentaje de agua, proteína y ENN aumentan y el de cenizas, grasa y fibra disminuyen a medida que el porcentaje de abrasión es mayor.

Este comportamiento se debe a que la cascarilla del grano, tiene mayor concentración de ceniza, grasa y fibra que el grano entero, y al realizar el perlado, se eliminó un mayor porcentaje de la ceniza, grasa y fibra que el porcentaje de abrasión realizado. Con respecto a la humedad, proteína y ENN, sucede lo

contrario, la cascarilla tiene una menor concentración que el grano entero, entonces a la hora de realizar el perlado, se elimina un menor porcentaje que el porcentaje de abrasión realizado; el grano perlado resulta con una mayor concentración.

Tabla 19: Composición proximal de cada experimento (%)

Exp	Humedad	Ceniza	Grasa	Proteína	Fibra	ENN
E ₁₁	11,07 ± 0,32	2,46 ± 0,03	4,37 ± 0,04	15,18 ± 0,17	3,91 ± 0,18	63,02 ± 0,27
E ₁₂	11,15 ± 0,31	2,34 ± 0,04	4,28 ± 0,03	15,21 ± 0,14	3,75 ± 0,14	63,28 ± 0,29
E ₁₃	11,31 ± 0,19	2,08 ± 0,04	4,08 ± 0,09	15,28 ± 0,14	3,56 ± 0,06	63,69 ± 0,32
E ₁₄	11,47 ± 0,15	1,76 ± 0,03	3,87 ± 0,05	15,36 ± 0,09	3,23 ± 0,08	64,32 ± 0,32
E ₂₁	10,99 ± 0,24	2,55 ± 0,05	4,48 ± 0,02	15,05 ± 0,21	4,16 ± 0,20	62,77 ± 0,20
E ₂₂	11,09 ± 0,17	2,40 ± 0,03	4,35 ± 0,05	15,07 ± 0,13	3,98 ± 0,14	63,11 ± 0,09
E ₂₃	11,28 ± 0,12	2,04 ± 0,04	4,12 ± 0,03	15,20 ± 0,20	3,80 ± 0,13	63,55 ± 0,18
E ₂₄	11,47 ± 0,08	1,81 ± 0,03	3,91 ± 0,03	15,22 ± 0,18	3,37 ± 0,11	64,22 ± 0,16
E ₃₁	10,88 ± 0,09	2,58 ± 0,03	4,57 ± 0,01	15,01 ± 0,13	4,43 ± 0,08	62,53 ± 0,22
E ₃₂	11,02 ± 0,09	2,41 ± 0,03	4,42 ± 0,02	15,08 ± 0,22	4,24 ± 0,13	62,83 ± 0,19
E ₃₃	11,19 ± 0,12	2,02 ± 0,04	4,17 ± 0,03	15,16 ± 0,18	3,93 ± 0,16	63,53 ± 0,25
E ₃₄	11,37 ± 0,05	1,74 ± 0,03	4,01 ± 0,03	15,40 ± 0,16	3,40 ± 0,12	64,08 ± 0,09

Con respecto a la literatura, Padrón y colaboradores⁽⁵⁷⁾ en el 2014, reportaron que el grano de quinua se divide en tres partes: el afrecho, el endospermo y el perispermo, donde la relación porcentual de cada uno es de 8,2 de cascarilla, 30,1 de endospermo, 58,8 de perispermo y un 2,9 de pérdidas, y cada fracción tiene su propia composición, como se observa en la tabla 20.

Tabla 20: Composición proximal de las diferentes partes del grano entero de quinua reportado en base seca.⁽⁵⁷⁾

Componente	Grano integral	Grano molido	Cascarilla (Epispermo)	Endospermo	Perispermo
Proteína	12,9 (100)	13,3 (96)	6,1 (4)	23,5 (57)	7,2 (39)
Grasa	6,5 (100)	6,7 (95)	3,9 (5)	10,2 (49)	5,0 (46)
ENN	63,7 (100)	64,6 (93)	54,2 (7)	43,1 (20)	78,2 (73)
Fibra	13,9 (100)	12,7 (84)	26,6 (16)	18,9 (45)	8,5 (39)

Ceniza	3,0 (100)	2,7 (76)	9,2 (24)	4,3 (51)	1,1 (25)
--------	-----------	----------	----------	----------	----------

Los valores en los paréntesis indican el porcentaje del grano integral

Determinaron que la cascarilla tiene un 16 por ciento del contenido total de fibra y un 24 por ciento del total de cenizas, por lo cual al realizar la eliminación de la cascarilla, se obtiene el grano molido, y al comparar la composición proximal del grano molido con respecto al grano entero, la concentración de proteína, grasa y ENN aumenta y el de la fibra y ceniza disminuye.

Al comparar los datos obtenidos con lo reportado con Padron, se parte de que el proceso de perlado elimina parte de la cascarilla, resultando que el grano perlado es todo el grano molido y una parte de la cascarilla. De lo anterior, se tiene un mismo comportamiento con respecto a la concentración de proteínas, cenizas y ENN, pero con respecto a la grasa es diferente; este comportamiento se debe a que la quinua cultivada en el Cauca, la grasa esta en mayor proporción en la cascarilla.

Nowak y colaboradores reportaron en el 2016⁽⁵⁾, los diferentes valores que han sido reportados en la literatura científica para la quinua integral en su composición proximal (ver tabla 21), donde se puede observar que los valores obtenidos en nuestra investigación están en los intervalos reportados, incluso de la mayoría de los granos perlados, a excepción de las cenizas y grasa, cuando se llegaba a un perlado del 50%; pero esto se debe a que en el proceso se pierde una parte importante de ceniza y grasa.

Tabla 21: Composición proximal reportada de la quinua integral por Nowak y colaboradores.⁽⁵⁾

Componente	Intervalo		Promedio	# de datos
	Mínimo	Máximo		
Humedad	8,2	13,1	10,1	64
Cenizas	2,0	7,7	3,3	37
Grasa	4,0	7,6	5,7	37
Proteína	9,1	15,7	13,1	37

Fibra	1,0	9,2	3,3	23
ENN	48,5	69,8	59,9	34

Para determinar si existe una diferencia significativa en la composición proximal entre los bloques de perlado, zona e intrabloques de cultivo, primero se procedió a determinar si los datos tenían un comportamiento normal. En la tabla 22, 23 y 24 se muestra la prueba de Shapiro-Wilk para cada experimento, el bloque de perlado y el bloque de las zonas respectivamente.

Tabla 22: Prueba de Shapiro-Wilk de todos los experimentos del diseño experimental para la composición proximal del grano de quinua.

	Perlado (%)	2000 msnm			2500 msnm			3000 msnm		
		Est	gl	Sig	Est	gl	Sig	Est	gl	Sig
Humedad	0	0,984	3	0,760	0,904	3	0,398	0,984	3	0,756
	10	0,994	3	0,858	0,995	3	0,870	0,915	3	0,433
	30	0,999	3	0,942	0,984	3	0,762	0,850	3	0,241
	50	0,981	3	0,736	0,932	3	0,497	0,964	3	0,637
Cenizas	0	0,893	3	0,363	0,893	3	0,363	0,987	3	0,780
	10	0,980	3	0,726	0,987	3	0,780	0,893	3	0,363
	30	0,923	3	0,463	0,993	3	0,843	0,942	3	0,537
	50	1,000	3	1,000	0,964	3	0,637	0,871	3	0,298
Grasa	0	0,942	3	0,537	0,923	3	0,463	1,000	3	1,000
	10	0,987	3	0,780	0,907	3	0,407	0,923	3	0,463
	30	0,984	3	0,756	0,964	3	0,637	0,964	3	0,637
	50	0,893	3	0,363	0,987	3	0,780	0,987	3	0,780
Proteína	0	1,000	3	0,967	0,877	3	0,314	0,995	3	0,868
	10	0,907	3	0,407	0,934	3	0,503	0,824	3	0,174
	30	0,985	3	0,765	0,915	3	0,437	0,975	3	0,696
	50	0,990	3	0,806	0,881	3	0,328	0,973	3	0,683
Fibra	0	0,818	3	0,157	0,912	3	0,424	0,955	3	0,593
	10	0,883	3	0,334	0,959	3	0,612	0,934	3	0,503
	30	0,923	3	0,463	0,842	3	0,220	0,851	3	0,244
	50	0,995	3	0,862	0,942	3	0,537	0,945	3	0,549
ENN	0	0,998	3	0,918	0,995	3	0,859	0,905	3	0,402
	10	0,998	3	0,924	0,964	3	0,637	0,981	3	0,734
	30	0,986	3	0,774	0,987	3	0,780	0,999	3	0,956

50 0,990 3 0,808 0,968 3 0,659 0,947 3 0,554

Tabla 23: Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de perlado para la composición proximal del grano de quinua.

Componente	Perlado (%)	Est	gl	Sig	Componente	Perlado (%)	Est	gl	Sig
Humedad	0	0,941	9	0,592	Ceniza	0	0,947	9	0,656
	10	0,927	9	0,455		10	0,893	9	0,214
	30	0,978	9	0,954		30	0,978	9	0,955
	50	0,949	9	0,678		50	0,941	9	0,590
Grasa	0	0,925	9	0,439	Proteína	0	0,970	9	0,897
	10	0,922	9	0,406		10	0,933	9	0,514
	30	0,925	9	0,437		30	0,913	9	0,339
	50	0,968	9	0,880		50	0,950	9	0,692
Fibra	0	0,917	9	0,369	ENN	0	0,973	9	0,916
	10	0,961	9	0,806		10	0,970	9	0,897
	30	0,937	9	0,551		30	0,952	9	0,712
	50	0,960	9	0,794		50	0,902	9	0,263

Tabla 24: Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de zona para la composición proximal.

Componente	Perlado (%)	Est	gl	Sig	Componente	Perlado (%)	Est	gl	Sig
Humedad	2000	0,932	12	0,406	Ceniza	2000	0,886	12	0,104
	2500	0,966	12	0,862		2500	0,892	12	0,125
	3000	0,948	12	0,614		3000	0,880	12	0,088
Grasa	2000	0,910	12	0,214	Proteína	2000	0,945	12	0,561
	2500	0,902	12	0,166		2500	0,955	12	0,717
	3000	0,896	12	0,140		3000	0,972	12	0,929
Fibra	2000	0,976	12	0,963	ENN	2000	0,968	12	0,884
	2500	0,958	12	0,750		2500	0,950	12	0,636
	3000	0,908	12	0,202		3000	0,920	12	0,283

En todos los casos, los datos tienen un comportamiento normal, ya sean de forma individual, o en los bloques de perlado y altura, por lo cual se procedió a realizar la prueba de Levene (ver tabla 25, 26, 27 y 28).

Tabla 25: Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intrazonal.

Componente	2000 msnm				2500 msnm				3000 msnm			
	Est	gl1	gl2	Sig	Est	gl1	gl2	Sig	Est	gl1	gl2	Sig
Humedad	0,672	3	8	0,593	1,650	3	8	0,254	1,235	3	8	0,359
Cenizas	0,386	3	8	0,766	1,029	3	8	0,430	0,314	3	8	0,815
Grasa	1,771	3	8	0,230	1,268	3	8	0,349	1,127	3	8	0,394
Proteína	0,355	3	8	0,787	0,439	3	8	0,732	0,619	3	8	0,622
Fibra	2,570	3	8	0,127	0,791	3	8	0,532	0,728	3	8	0,564
ENN	0,046	3	8	0,986	0,433	3	8	0,735	0,753	3	8	0,551

Tabla 26: Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intraperlado de 0 y 10%

Componente	0%				10%			
	Est	gl1	gl2	Sig	Est	gl1	gl2	Sig
Humedad	1,787	2	6	0,246	1,415	2	6	0,314
Cenizas	2,045	2	6	0,210	0,486	2	6	0,638
Grasa	2,681	2	6	0,147	1,908	2	6	0,228
Proteína	0,693	2	6	0,536	1,094	2	6	0,394
Fibra	1,971	2	6	0,220	0,018	2	6	0,982
ENN	0,136	2	6	0,875	1,089	2	6	0,395

Tabla 27: Prueba de Levene de la composición proximal del grano de quinua intraperlado de 30 y 50%

Componente	30%				50%			
	Est	gl1	gl2	Sig	Est	gl1	gl2	Sig
Humedad	0,339	2	6	0,725	1,799	2	6	0,244
Cenizas	0,122	2	6	0,888	0,071	2	6	0,933

Grasa	2,239	2	6	0,188	2,062	2	6	0,208
Proteína	0,297	2	6	0,753	1,118	2	6	0,387
Fibra	2,217	2	6	0,190	0,445	2	6	0,660
ENN	0,429	2	6	0,669	1,747	2	6	0,252

Tabla 28: Prueba de Levene por bloque de perlado y zona para la composición proximal del grano de quinua.

Componente	F	gl1	gl2	Sig
Humedad	1,236	11	24	0,318
Cenizas	0,610	11	24	0,802
Grasa	1,047	11	24	0,439
Proteína	0,459	11	24	0,910
Fibra	0,648	11	24	0,771
ENN	0,649	11	24	0,770

En todos los casos, las varianzas son homogéneas, por lo cual se realizó las respectivas pruebas anova para varianzas homogéneas; primero se realizó para el intrazonal a 2000 msnm (ver tabla 29).

Tabla 29: Prueba anova de la composición proximal del grano de quinua intrazonal a 2000 msnm, para los diferentes niveles de perlado.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,283	3	0,094	1,462	0,296
	Intra-grupos	0,516	8	0,065		
	Total	0,800	11			
Cenizas	Inter-grupos	0,861	3	0,287	231,213	0,000
	Intra-grupos	0,010	8	0,001		
	Total	0,871	11			
Grasa	Inter-grupos	0,442	3	0,147	45,436	0,000
	Intra-grupos	0,026	8	0,003		
	Total	0,468	11			
Proteína	Inter-grupos	0,059	3	0,020	1,063	0,417
	Intra-grupos	0,149	8	0,019		
	Total	0,208	11			
Fibra	Inter-grupos	0,774	3	0,258	16,066	0,001
	Intra-grupos	0,129	8	0,016		

	Total	0,903	11			
ENN	Inter-grupos	2,878	3	0,959		
	Intra-grupos	0,716	8	0,090	10,715	0,004
	Total	3,594	11			

Se observa que los granos de quinua en la intrazona de 2000 msnm, no hay diferencia significativa en ningún porcentaje de perlado con respecto a la humedad y proteína, por lo cual no se ve afectada la composición nutricional con respecto a la proteína total. Lo que se hará más adelante es evaluar cómo afecta el proceso de perlado, la composición de aminoácidos esenciales y no esenciales en los granos procesados. Si hay diferencia significativa en la concentración de cenizas, grasa, fibra y ENN, por lo cual se determinó entre qué porcentaje de perlado existen estas diferencias, a través de la prueba Tukey (ver tablas 30, 31, 32 y 33).

Tabla 30: Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 2000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	3	1,7600			
30	3		2,0833		
10	3			2,3367	
0	3				2,4600
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 31: Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 2000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
50	3	3,8700		
30	3		4,0833	
10	3			4,2767
0	3			4,3700
Sig.		1,000	1,000	0,261

Tabla 32: Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 2000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
50	3	3,2267		

30	3		3,5600	
10	3		3,7467	3,7467
0	3			3,9100
Sig.		1,000	0,338	0,441

Tabla 33: Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 2000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
50	3	63,0167	
30	3	63,2833	
10	3	63,6867	63,6867
0	3		64,3167
Sig.		0,096	0,120

En la tabla 30, se observa una diferencia significativa en todos los porcentajes de perlado para la ceniza; esto se debe a la ubicación de la ceniza en el grano, ya que una gran cantidad de esta se encuentra en la cascarilla; entonces a mayor grado de perlado, disminuye la concentración en el grano procesado de una manera significativa.⁽⁵⁴⁾

En la tabla 31, el contenido de grasa tiene un comportamiento muy similar a la ceniza; presenta diferencia significativa entre los diferentes porcentajes de perlado, excepto para 0 y 10%; esto se debe a que la grasa está también presente en gran parte en el afrecho, pero en el proceso disminuye en menor grado que la ceniza. a 10% se elimina pero no llega a ser significativa, en cambio a 30 y 50%, la pérdida es mayor en las dos, y se logra que la diferencia sea significativa.

Con respecto a la fibra (ver tabla 32), en el grano perlado al 50% hay una diferencia significativa con respecto a los demás; este comportamiento se debe a que a mayor perlado, mayor pérdida de cascarilla, pero esta pérdida no llega a ser significativa entre el grano perlado de 10%, con 0 y 30%. El grano entero si tiene una concentración mayor que el grano perlado del 30%.

En el extracto no nitrogenado (ver tabla 33), hay diferencia significativa, entre el grano entero y los niveles de perlado de 30 y 50%. Esto se debe a la baja cantidad

de ENN que se pierde, ya que el grano entero tiene el ENN en el endospermo y perispermo, entonces la concentración de ENN tiene un comportamiento inverso, pero no alcanza a llegar a ser significativo 10% de perlado. Con respecto a 30 y 50%, la diferencia tampoco es significativo, ya que el incremento que logra, es lo suficiente para llegar a tener una concentración significativamente igual.

Al analizar cómo afectan los diferentes niveles de perlado en la composición proximal en los granos de quinua en la intrazona 2500 msnm (ver tabla 34), se observa que todas las variables son afectadas en el proceso porque tienen un $P_{valor} < 0,050$ excepto la proteína que tiene un $P_{valor} \geq 0,050$.

Tabla 34: Prueba anova de la composición proximal intrazonal a 2500 msnm, para los diferentes niveles de perlado.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,408	3	0,136	5,080	0,029
	Intra-grupos	0,214	8	0,027		
	Total	0,622	11			
Cenizas	Inter-grupos	1,029	3	0,343	245,069	0,000
	Intra-grupos	0,011	8	0,001		
	Total	1,040	11			
Grasa	Inter-grupos	0,561	3	0,187	176,693	0,000
	Intra-grupos	0,008	8	0,001		
	Total	0,569	11			
Proteína	Inter-grupos	0,068	3	0,023	0,680	0,589
	Intra-grupos	0,268	8	0,034		
	Total	0,336	11			
Fibra	Inter-grupos	1,029	3	0,343	15,082	0,001
	Intra-grupos	0,182	8	0,023		
	Total	1,210	11			
ENN	Inter-grupos	3,525	3	1,175	45,154	0,000
	Intra-grupos	0,208	8	0,026		
	Total	3,734	11			

Como se realizó el mismo análisis que se hizo a los 2000 msnm, las tablas de la prueba tukey ver en anexos 3 al 7.

En el caso de la humedad en la prueba Tukey (ver anexo 3); hay una mayor concentración de agua entre la quinua obtenida a un perlado del 50%, que la quinua completa, esto se debe a que al disminuir la cascarilla del grano perlado, donde la humedad es menor, la proporción de agua aumenta significativamente, además se puede dar el caso de que el grano perlado, absorba parte de la humedad del ambiente, ya que los carbohidratos del grano están más expuestos al ambiente y absorban agua del lugar.

Con respecto a la ceniza y a la grasa (ver anexo 4 y 5), la concentración es menor significativamente en todos los niveles, como se dijo para la altura de 2000 msnm, porque al aumentar el porcentaje de perlado disminuye significativamente la concentración.

Con respecto a la fibra (ver anexo 6); hay diferencia significativa entre el grano sin perlar con los demás niveles de perlado.

El contenido de ENN (ver Anexo 7), hay diferencia significativa entre todos, excepto entre 0 y 10%.

La intrazona 3000 msnm (ver tabla 35), tienen un comportamiento muy similar a la intrazona 2500 msnm, donde la proteína no tiene diferencia significativa, y las demás variables si hay diferencia significativa.

Tabla 35: Prueba anova de la composición proximal intrazonal a 30000 msnm, para los diferentes niveles de perlado.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,408	3	0,136	16,753	0,001
	Intra-grupos	0,065	8	0,008		
	Total	0,473	11			
Cenizas	Inter-grupos	1,295	3	0,432	470,748	0,000
	Intra-grupos	0,007	8	0,001		
	Total	1,302	11			
Grasa	Inter-grupos	0,565	3	0,188	358,709	0,000
	Intra-grupos	0,004	8	0,001		
	Total	0,569	11			
Proteína	Inter-grupos	0,258	3	0,086	2,815	0,108
	Intra-grupos	0,244	8	0,031		
	Total	0,502	11			

Fibra	Inter-grupos	1,810	3	0,603	37,286	0,000
	Intra-grupos	0,129	8	0,016		
	Total	1,940	11			
ENN	Inter-grupos	4,360	3	1,453	38,376	0,000
	Intra-grupos	0,303	8	0,038		
	Total	4,663	11			

Como se realizó el mismo análisis que se hizo a los 2000 msnm y 2500 msnm, las tablas de la prueba tukey ver en anexos 8 al 12.

Con respecto a la humedad, (ver anexo 8); hay diferencia significativa entre el grano sin perlar y los niveles 30 y 50%, también entre los niveles 10 y 50%

La concentración de ceniza y grasa (ver anexo 9 y 10), es diferente significativamente en todos los niveles.

La concentración de la fibra (ver anexo 11); no tiene diferencia significativa entre el nivel de 30% y los niveles de 10 y 50%.

La concentración de ENN (ver anexo 12), entre el grano integral y 10% no hay una diferencia significativa.

Ahora se analizará como es el efecto de las zonas, internamente de los cuatro bloques de perlado (intraperlados).

Los granos integrales de quinua que se cultivaron en los tres pisos térmicos, mostraron que había diferencias significativas en la ceniza, grasa y fibra (ver tabla 36),

Tabla 36: Prueba anova de la composición proximal intraperlado del grano integral.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,055	2	0,028	0,484	0,639
	Intra-grupos	0,342	6	0,057		
	Total	0,397	8			
Cenizas	Inter-grupos	0,024	2	0,012	8,863	0,016
	Intra-grupos	0,008	6	0,001		
	Total	0,033	8			
Grasa	Inter-grupos	0,060	2	0,030	49,164	0,000
	Intra-grupos	0,004	6	0,001		
	Total	0,064	8			
Proteína	Inter-grupos	0,045	2	0,022	0,760	0,508
	Intra-grupos	0,177	6	0,030		

Fibra	Total	0,222	8			
	Inter-grupos	0,406	2	0,203		
	Intra-grupos	0,163	6	0,027	7,450	0,024
ENN	Total	0,569	8			
	Inter-grupos	0,351	2	0,175		
	Intra-grupos	0,315	6	0,053	3,334	0,106
	Total	0,666	8			

Este comportamiento se da por diversos motivos, como lo reportó en el dos mil trece Miranda y colaboradores⁽³³⁾; una es la disminución del diámetro del grano, a medida que aumenta la altura donde se cultiva la quinua; como se disminuye el diámetro del grano y se incrementa el número de granos por cada 100 g de muestra, resultando un aumento del área superficial. Con respecto a las demás variables de respuesta, no hay cambios significativos.^(33, 57, 58)

Otra causa para que se dé la diferencia significativa, es el suelo donde se cultivó la quinua, ya que la composición del suelo es diferente y la pluviosidad de cada sector la afecta la composición del grano. Para determinar entre que zonas hay la diferencia significativa, se procede a realizar la prueba Tukey, (ver tablas 37, 38 y 39 respectivamente).^(33, 57, 58)

Tabla 37: Prueba Tukey para la composición de cenizas intraperlado del grano integral.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	2,4600	
2500	4	2,5500	2,5500
3000	4		2,5833
Sig.		0,056	0,548

Con respecto a la ceniza, al aumentar la superficie de contacto en la muestra, y la ceniza se encuentra en la cascarilla, se pierde más fácilmente, provocando la diferencia significativa, pero solamente entre 2000 y 3000 msnm, ya que a 2500 msnm, está en el medio de los dos valores y no alcanza a ser significativo.

Tabla 38: Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado del grano integral.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
2000	4	4,3700		
2500	4		4,4767	
3000	4			4,5700
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tabla 39: Prueba Tukey para la composición de fibra intraperlado del grano integral.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	3,9100	
2500	4	4,1600	4,1600
3000	4		4,4300
Sig.		0,231	0,192

La grasa y la fibra tienen un comportamiento similar a la ceniza, solamente que la grasa tiene en todo los niveles hay diferencia significativa.

Al analizar en el intraperlado del 10%, si hay o no diferencias significativas, la prueba anova (ver tabla 40).

Tabla 40: Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 10%.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,024	2	0,012		
	Intra-grupos	0,267	6	0,045	0,271	0,772
	Total	0,291	8			
Cenizas	Inter-grupos	0,010	2	0,005		
	Intra-grupos	0,006	6	0,001	4,989	0,053
	Total	0,016	8			
Grasa	Inter-grupos	0,029	2	0,015		
	Intra-grupos	0,007	6	0,001	13,404	0,006
	Total	0,036	8			
Proteína	Inter-grupos	0,036	2	0,018		
	Intra-grupos	0,173	6	0,029	0,620	0,569
	Total	0,209	8			
Fibra	Inter-grupos	0,366	2	0,183	9,269	0,015

	Intra-grupos	0,118	6	0,020		
	Total	0,484	8			
ENN	Inter-grupos	0,314	2	0,157		
	Intra-grupos	0,255	6	0,043	3,693	0,090
	Total	0,569	8			

Se determinó que no hay diferencia significativa en la humedad, cenizas, proteína y ENN, ya que el $P_{valor} \geq 0,050$, pero la fibra y grasa tienen una diferencia significativa, por lo cual se realizaron la prueba Tukey para ambos casos (ver anexos 13 y 14). Y solo tienen diferencia significativa entre 2000 y 3000 msnm, por lo que se explicó para el caso del grano integral.

Con un perlado del 30%, no hay diferencias significativas en ninguna variable, excepto en la fibra (ver tabla 41).

Tabla 41: Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 30%.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,023	2	0,012		
	Intra-grupos	0,128	6	0,021	0,550	0,603
	Total	0,151	8			
Cenizas	Inter-grupos	0,006	2	0,003		
	Intra-grupos	0,009	6	0,001	2,164	0,196
	Total	0,015	8			
Grasa	Inter-grupos	0,012	2	0,006		
	Intra-grupos	0,020	6	0,003	1,812	0,242
	Total	0,032	8			
Proteína	Inter-grupos	0,023	2	0,012		
	Intra-grupos	0,185	6	0,031	0,377	0,701
	Total	0,208	8			
Fibra	Inter-grupos	0,211	2	0,106		
	Intra-grupos	0,091	6	0,015	6,939	0,028
	Total	0,303	8			
ENN	Inter-grupos	0,042	2	0,021		
	Intra-grupos	0,388	6	0,065	0,322	0,736
	Total	0,430	8			

Se procedió a determinar entre que niveles hay diferencia significativa (ver anexo 15) y solo hay diferencia entre los niveles de 2000 y 3000 msnm. ya que este comportamiento se da, por lo dicho anteriormente en el grano integral, pero la grasa, ya no se ve afectada, porque a un 30% de perlado, en todos los niveles, el pericarpio eliminado ya no es muy superficial, entonces todas los granos se ha eliminado la capa más externa donde está una gran cantidad de la grasa, además el perlado que se hizo al grano cultivado a 2000 msnm fue un alrededor de un 0,2% menor que el de 3000 msnm (ver ecuación 18), entonces esta diferencia dejo de ser significativo.

Ecuación 18:

$$\frac{\text{perdida 3000} - \text{perdida 2000 msnm}}{\text{total}} \times 100\% = \frac{3,3\% - 3,1\%}{100\%} \times 100\% = 0,2\%$$

El intraperlado a 50%, no hay diferencia significativa entre las tres alturas donde se cultivó la quinua (ver anexo 16), excepto la grasa, que hay diferencia significativa y en la prueba tukey (ver anexo 17) se determinó que la quinua que se cultivó a los 2000 msnm tiene diferente concentración que la quinua que se obtuvo a 3000 msnm; esto se debe al tamaño del grano que se dijo anteriormente.

Para el análisis por bloques de perlado y zona, se deben probar que las variables independientes no tengan interacción entre ellas. Por ello, se realizó la prueba anova, al determinar si la interacción entre ambas variables independientes, afecta significativamente en alguna variable de respuesta (ver tabla 42).

Tabla 42: Determinación de la interacción de las variables perlado y zona.

Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zona x perlado	Humedad (%)	0,010	6	0,002	0,050	0,999
	Cenizas (%)	0,036	6	0,006	5,100	0,002
	Grasa (%)	0,010	6	0,002	1,087	0,398
	Proteína (%)	0,062	6	0,010	0,374	0,888
	Fibra (%)	0,120	6	0,020	1,088	0,398
	ENN (%)	0,130	6	0,022	0,424	0,856
Error	Humedad (%)	0,795	24	0,033		
	Cenizas (%)	0,028	24	0,001		

	Grasa (%)	0,039	24	0,002
	Proteína (%)	0,662	24	0,028
	Fibra (%)	0,440	24	0,018
	ENN (%)	1,227	24	0,051
Total	Humedad (%)	4509,115	36	
	Cenizas (%)	174,834	36	
	Grasa (%)	642,661	36	
	Proteína (%)	8302,479	36	
	Fibra (%)	528,311	36	
	ENN (%)	144763,734	36	

Resultado que en las cenizas si hay interacción entre ambos factores. En consecuencia, no se podrá realizar por bloques para la ceniza, entonces se realizará por anova de un factor, el cual se disminuirá la precisión, porque se incrementa la variabilidad residual, generando en ocasiones un error tipo I. Pero en las demás variables de respuesta si se podrá realizar un anova por bloques (ver tabla 43).

Tabla 43: Anova para los bloques de perlado y zona.

Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	Humedad (%)	0,113	2	0,056	2,099	0,140
	Grasa (%)	0,121	2	0,060	36,838	0,000
	Proteína (%)	0,096	2	0,048	1,985	0,155
	Fibra (%)	0,916	2	0,458	24,560	0,000
	ENN (%)	0,663	2	0,332	7,330	0,003
Perlado	Humedad (%)	1,089	3	0,363	13,521	0,000
	Grasa (%)	1,557	3	0,519	317,250	0,000
	Proteína (%)	0,324	3	0,108	4,477	0,010
	Fibra (%)	3,494	3	1,165	62,443	0,000
	ENN (%)	10,634	3	3,545	78,334	0,000
Error	Humedad (%)	0,805	30	0,027		
	Grasa (%)	0,049	30	0,002		
	Proteína (%)	0,723	30	0,024		
	Fibra (%)	0,559	30	0,019		
	ENN (%)	1,357	30	0,045		
Total	Humedad (%)	2,007	35			
	Grasa (%)	1,727	35			

Proteína (%)	1,143	35
Fibra (%)	4,969	35
ENN (%)	12,655	35

En el análisis de varianza por bloques, se observa que en el bloque de las zonas, existe una diferencia significativa para la grasa, fibra y ENN; para determinar entre que zonas hay esa diferencia significativa se utilizó la prueba Tukey (ver anexos 18, 19 y 20 respectivamente), resultando en el caso de la grasa y fibra, una diferencia significativa en todas las zonas, por el tamaño del grano y peso del grano. El ENN, solo hay diferencia significativa para los 2000 y 3000 msnm, este comportamiento se da porque el ENN está en mayor concentración en el endospermo y perispermo, que al disminuir el tamaño, del grano de quinua, la concentración es menor, pero la concentración del ENN del grano de quinua cultivado a 2500 msnm, está en la mitad de los otros dos cultivos, pero en este caso, no se alcanza a percibir la diferencia, ya que hay un solapamiento de los datos, generando que no se pueda observar una diferencia significativa.

Para el caso de los bloques de perlado, en todos los casos hay diferencia significativa, ya que al desaponificar, se elimina material vegetal, afectando la composición proximal, en el grano desaponificado. Para determinar entre que bloques hay diferencia significativa se realizó la prueba Tukey para, humedad, lípidos, fibra, proteína y ENN (ver anexos 21, 22, 23, 24 y 25).

Para la humedad, se determinó que hay diferencia significativa entre el grano integral con los granos perlados a 30 y 50%, y en el grano tratado un 10% con el de 50%.

Con respecto a las variables: grasa, fibra y ENN, hay una diferencia significativa para todos los niveles. En cambio, a la proteína, solo hay diferencia significativa entre los niveles de grano integral y 50%.

Para determinar cómo afecta el proceso de desaponificación, a la concentración de cenizas en el grano procesado, se realizó el análisis estadístico (ver anexo 26).

Se determinó que hay diferencia significativa en ambas variables y que hay interacción de las variables, donde la prueba post hoc (ver anexos 27 y 28), se estableció que hay un aumento significativo entre las alturas de 2000 y 3000 msnm; y en los bloques de perlado, en todos los niveles hay diferencia significativa.

De todo lo anterior analizado, se determina que el proceso de perlado afecta negativamente la concentración de grasa, ceniza y fibra, pero afecta positivamente la humedad, proteína y ENN, con respecto a la zona, la concentración de las cenizas, grasa y fibra tienen una relación directamente proporcional.

7.4. Análisis del efecto de perlado en la composición de aminoácidos.

Un importante componente de la quinua, es la concentración de aminoácidos esenciales para el ser humano; en la tabla (ver tabla 44), se puede observar que los aminoácidos esenciales en todos los casos, cumplen los requerimientos mínimos, excepto en el caso de la met-cys, donde en todos los casos da un valor por debajo de los requerimientos, pero en este caso, no se pudo determinar si era deficiencia de la metionina, cisteína o de ambas.

Es importante tener en cuenta que en los siguientes casos Met - Cys, Asp - Asn y Glu - Gln, cuando se realiza la derivatización para determinar la concentración de los aminoácidos, su cuantificación no se puede realizar por separado, sino que generan un mismo pico en el cromatograma. (ver anexos 29 y 30)

En los diversos estudios que han publicado la concentración de aminoácidos en la quinua, Nowak y colaboradores en el año 2016⁽⁵⁾, los consolidaron en una sola tabla (ver tabla 4) y todos los aminoácidos esenciales están dentro del rango de valores.

Como en este caso, no se hizo por triplicado por cuestión de costos, no se podrá realizar los análisis intraperlados, ni intrazonales, pero se realizará el análisis por

bloques aleatorizados, de la zona y el perlado, como se muestra en la tabla 14, a continuación se procederá a realizar el análisis de varianza de una vía.

Para determinar el efecto que tiene el perlado y la zona a la que se cultivó la quinua, en la concentración de los aminoácidos, se determinó primero la normalidad de los datos (ver tablas 45, 46 y 47).

Tabla 44: Composición porcentual de los diferentes aminoácidos a 2000, 2500 y 3000 msnm.

AA	2000 msnm				2500 msnm				3000 msnm				
	0%	10%	30%	50%	0%	10%	30%	50%	0%	10%	30%	50%	
His	3,222	3,226	3,233	3,241	3,210	3,214	3,219	3,225	3,218	3,223	3,229	3,231	1,5
Ile	4,348	4,353	4,362	4,373	4,353	4,358	4,366	4,376	4,350	4,356	4,364	4,368	3,0
Leu	7,474	7,435	7,411	7,372	7,457	7,421	7,410	7,377	7,471	7,437	7,435	7,399	5,9
Lys	7,564	7,575	7,590	7,608	7,573	7,583	7,597	7,611	7,593	7,603	7,618	7,625	4,5
Met+Cys	1,313	1,314	1,315	1,317	1,343	1,344	1,345	1,346	1,337	1,338	1,339	1,339	2,2
Phe	4,528	4,516	4,480	4,456	4,525	4,510	4,486	4,459	4,575	4,557	4,522	4,516	3,8
Tyr	3,430	3,435	3,440	3,448	3,429	3,433	3,438	3,442	3,427	3,431	3,435	3,439	
Thr	5,701	5,711	5,721	5,736	5,705	5,714	5,724	5,735	5,723	5,731	5,742	5,748	2,3
Trp	1,868	1,809	1,703	1,573	1,865	1,807	1,702	1,621	1,873	1,813	1,709	1,678	0,6
Val	4,915	4,923	4,932	4,944	4,924	4,931	4,940	4,950	4,877	4,885	4,894	4,899	3,9
Ser	4,179	4,181	4,189	4,203	4,174	4,178	4,184	4,193	4,177	4,183	4,188	4,193	
Asp+Asn	15,889	15,901	15,927	15,945	15,849	15,862	15,880	15,894	15,873	15,887	15,901	15,906	
Glu+Gln	13,870	13,890	13,914	13,944	13,937	13,954	13,977	13,998	13,807	13,825	13,847	13,859	
Gly	5,222	5,231	5,241	5,253	5,229	5,237	5,245	5,255	5,216	5,223	5,233	5,238	
Arg	8,357	8,367	8,387	8,408	8,321	8,334	8,349	8,364	8,313	8,324	8,342	8,351	
Ala	4,509	4,517	4,532	4,548	4,518	4,527	4,540	4,550	4,561	4,571	4,582	4,588	
Pro	3,611	3,616	3,623	3,631	3,588	3,593	3,598	3,604	3,609	3,613	3,620	3,623	

Tabla 45: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para el bloque de zona.

Zona	2000 msnm			2500 msnm			3000 msnm			
	AA	Est	gl	Sig.	Est	gl	Sig.	Est	Gl	Sig.
His		0,968	4	0,828	0,985	4	0,931	0,942	4	0,665
Ile		0,964	4	0,803	0,970	4	0,842	0,963	4	0,796
Leu		1,000	4	1,000	0,989	4	0,953	0,956	4	0,756
Lys		0,981	4	0,906	0,982	4	0,913	0,957	4	0,758
Met+Cys		0,971	4	0,850	0,993	4	0,972	0,863	4	0,272
Phe		0,939	4	0,650	0,973	4	0,863	0,900	4	0,431
Tyr		0,986	4	0,937	0,983	4	0,921	0,993	4	0,972
Thr		0,989	4	0,952	0,991	4	0,962	0,966	4	0,819
Trp		0,964	4	0,803	0,968	4	0,830	0,930	4	0,592
Val		0,987	4	0,944	0,985	4	0,931	0,970	4	0,840
Ser		0,893	4	0,395	0,965	4	0,810	0,994	4	0,977
Asp+Asn		0,957	4	0,761	0,979	4	0,899	0,944	4	0,677
Glu+Gln		0,986	4	0,937	0,983	4	0,920	0,968	4	0,831
Gly		0,990	4	0,959	0,994	4	0,975	0,961	4	0,787
Arg		0,962	4	0,792	0,989	4	0,955	0,958	4	0,763
Ala		0,966	4	0,814	0,978	4	0,889	0,969	4	0,834
Pro		0,980	4	0,904	0,994	4	0,977	0,948	4	0,702

Tabla 46: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los bloques 0 y 10% de perlado.

Perlado	0%			10%			
	AA	Est	Gl	Sig.	Est	Gl	Sig.
His		0,964	3	0,637	0,923	3	0,463
Ile		0,987	3	0,780	0,987	3	0,780
Leu		0,878	3	0,317	0,842	3	0,220
Lys		0,954	3	0,588	0,942	3	0,537
Met+Cys		0,893	3	0,363	0,893	3	0,363
Phe		0,795	3	0,102	0,844	3	0,225
Tyr		0,964	3	0,637	1,000	3	1,000
Thr		0,881	3	0,328	0,860	3	0,266
Trp		0,980	3	0,726	0,964	3	0,637
Val		0,887	3	0,346	0,876	3	0,312
Ser		0,987	3	0,780	0,987	3	0,780
Asp+Asn		0,987	3	0,780	0,974	3	0,692
Glu+Gln		1,000	3	0,966	1,000	3	0,991
Gly		0,998	3	0,915	0,993	3	0,843
Arg		0,881	3	0,328	0,913	3	0,428
Ala		0,875	3	0,311	0,883	3	0,334
Pro		0,815	3	0,150	0,846	3	0,230

Tabla 47: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para para los bloques 30 y 50% de perlado.

Perlado	30%			50%			
	AA	Est	Gf	Sig.	Est	Gf	Sig.
His		0,942	3	0,537	0,980	3	0,726
Ile		1,000	3	1,000	0,980	3	0,726
Leu		0,780	3	0,067	0,883	3	0,334
Lys		0,923	3	0,463	0,878	3	0,317
Met+Cys		0,893	3	0,363	0,918	3	0,446
Phe		0,855	3	0,253	0,787	3	0,085
Tyr		0,987	3	0,780	0,964	3	0,637
Thr		0,855	3	0,253	0,807	3	0,132
Trp		0,855	3	0,253	0,998	3	0,906
Val		0,876	3	0,312	0,837	3	0,206
Ser		0,893	3	0,363	0,750	3	0,000
Asp+Asn		0,996	3	0,883	0,915	3	0,433
Glu+Gln		1,000	3	0,966	0,984	3	0,755
Gly		0,964	3	0,637	0,837	3	0,206
Arg		0,863	3	0,277	0,910	3	0,419
Ala		0,866	3	0,286	0,787	3	0,085
Pro		0,839	3	0,210	0,948	3	0,559

Resultando que los datos son normales para la zona de cultivo, por lo cual se procede a realizar pruebas paramétricas, pero en el caso de perlado, todos los datos excepto la serina, cuando se le hace el perlado al 50%, no tiene un comportamiento normal, porque tiene un $P_{valor} < 0.05$, en este caso se le hará el análisis estadístico, a través de pruebas no paramétricas. A los demás casos, se procederá a realizar pruebas paramétricas.

A los datos normales se les determinó si las varianzas son homocedásticos, a través de la prueba de Levene (ver tabla 48).

Tabla 48: Prueba de Levene, para la homocedasticidad de varianzas, para los aminoácidos.

Factor AA	Estadístico de Levene	Altura			Perlado			
		gl1	gl2	Sig.	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
His	0,401	2	9	0,681	0,116	3	8	0,948
Ile	0,228	2	9	0,801	0,634	3	8	0,614
Leu	0,402	2	9	0,681	0,948	3	8	0,462
Lys	0,184	2	9	0,835	0,370	3	8	0,777
Met+Cys	0,563	2	9	0,589	0,009	3	8	0,999
Phe	0,198	2	9	0,824	0,448	3	8	0,726
Tyr	0,382	2	9	0,693	1,557	3	8	0,274
Thr	0,146	2	9	0,866	0,510	3	8	0,687
Trp	0,336	2	9	0,723	4,034	3	8	0,051
Val	0,124	2	9	0,884	0,059	3	8	0,980
Ser ¹	0,390	2	9	0,688	0,035	2	6	0,965
Asp+Asn	1,311	2	9	0,317	0,194	3	8	0,898
Glu+Gln	0,262	2	9	0,775	0,022	3	8	0,995
Gly	0,217	2	9	0,809	0,441	3	8	0,730
Arg	0,263	2	9	0,775	0,197	3	8	0,895
Ala	0,454	2	9	0,649	0,126	3	8	0,942
Pro	0,309	2	9	0,742	0,020	3	8	0,996

¹ No se tuvo en cuenta el dato que no es normal

El resultado de todos tienen un $P_{valor} \geq 0.05$, por lo cual se puede realizar el anova; en el caso de la serina, para la zona se realizó el anova de un factor, pero con respecto al perlado se hizo el análisis de varianzas para 0, 10 y 30%, para determinar si hay o no diferencia significativa para el 50% de perlado con el resto de los niveles, se les hará la prueba U de Mann Whitney con los diferentes grados de perlado, aunque esta prueba sea más conservadora y genera un poco más de error.

En las tablas 49 y 50, se observa que en los bloque de la variable zona, hay diferencia significativa en casi todos los aminoácidos, excepto en el caso del triptófano, Con respecto al porcentaje de perlado, la concentración de todos los aminoácidos tienen una diferencia significativa.

Tabla 49: Anova del bloque de la zona con el error, para los aminoácidos.

AA	Zona					Error		
	A	gl	B	F	Sig.	A	gl	B
His	0,000	2	0,000	66,030	0,000	1,683E-5	6	2,806E-6
Ile	4,317E-5	2	2,158E-5	5,672	0,041	2,283E-5	6	3,806E-6
Leu	0,001	2	0,000	6,241	0,034	0,000	6	6,114E-5
Lys	0,001	2	0,001	84,636	0,000	4,950E-5	6	8,250E-6
Met + Cys	0,002	2	0,001	3937,000	0,000	1,500E-6	6	2,500E-7
Phe	0,006	2	0,003	98,814	0,000	0,000	6	3,044E-5
Tyr	5,517E-5	2	2,758E-5	13,603	0,006	1,217E-5	6	2,028E-6
Thr	0,001	2	0,000	79,857	0,000	3,150E-5	6	5,250E-6
Trp	0,002	2	0,001	1,482	0,300	0,004	6	0,001
Val	0,005	2	0,003	799,256	0,000	1,950E-5	6	3,250E-6
Asp + Asn	0,004	2	0,002	59,193	0,000	0,000	6	3,314E-5
Glu + Gln	0,035	2	0,017	670,974	0,000	0,000	6	2,600E-5
Gly	0,000	2	0,000	48,338	0,000	2,517E-5	6	4,194E-6
Arg	0,005	2	0,002	209,671	0,000	7,150E-5	6	1,192E-5
Ala	0,006	2	0,003	286,949	0,000	5,850E-5	6	9,750E-6
Pro	0,001	2	0,001	327,316	0,000	1,267E-5	6	2,111E-6

A: suma de cuadrados tipo III

B: Media cuadrática

Tabla 50: Anova del bloque de perlado con el total, para los aminoácidos.

AA	Perlado					Total	
	A	gl	B	F	Sig.	A	Gl
His	0,000	3	0,000	50,248	0,000	0,001	11
Ile	0,001	3	0,000	73,307	0,000	0,001	11
Leu	0,011	3	0,004	59,869	0,000	0,012	11
Lys	0,002	3	0,001	100,768	0,000	0,004	11
Met + Cys	1,500E-05	3	5,000E-6	20,000	0,002	0,002	11
Phe	0,008	3	0,003	87,420	0,000	0,014	11
Tyr	0,000	3	0,000	56,151	0,000	0,000	11
Thr	0,002	3	0,001	96,016	0,000	0,002	11
Trp	0,107	3	0,036	56,867	0,000	0,112	11
Val	0,001	3	0,000	113,949	0,000	0,006	11
Asp + Asn	0,004	3	0,001	35,745	0,000	0,008	11
Glu + Gln	0,007	3	0,002	84,962	0,000	0,042	11
Gly	0,001	3	0,000	93,106	0,000	0,002	11
Arg	0,003	3	0,001	94,608	0,000	0,008	11
Ala	0,002	3	0,001	63,462	0,000	0,008	11
Pro	0,000	3	0,000	75,408	0,000	0,002	11

A: suma de cuadrados tipo III

B: Media cuadrática

Para determinar entre que bloques de las zonas, hay la diferencia significativa se realizó la prueba Tukey (ver tablas 51), se observa que en los diferentes aminoácidos, no hay una tendencia clara, de cómo afecta la altura. En algunos casos no hay diferencia entre dos alturas, pero en otros la diferencia es entre las tres, esto comportamiento se debe en gran medida por las condiciones físicas y químicas del suelo que se afecta la concentración final, además de las condiciones climáticas, ^(33, 57, 58)

Tabla 51: Prueba tukey para los aminoácidos en los diferentes bloques de las zonas.

AA	(msnm)	N	1	2	3	AA	(msnm)	N	1	2	3
His	2500	4	3,21700			Ile	2000	4	4,35900		
	3000	4		3,22525			3000	4	4,35950	4,35950	
	2000	4			3,23050		2500	4		4,36325	
	Sig.		1,000	1,000	1,000		Sig.		0,931	0,077	
Leu	2500	4	7,41625			Lys	2000	4	7,58425		
	2000	4	7,42300	7,42300			2500	4		7,59100	
	3000	4		7,43550			3000	4			7,60975
	Sig.		0,485	0,139			Sig.		1,000	1,000	1,000
Met +	2000	4	1,31475			Phe	2500	4	4,49500		
	3000	4		1,33825			2000	4	4,49500		
Cys	2500	4			1,34450	Thr	3000	4		4,54250	
	Sig.		1,000	1,000	1,000		Sig.		1,000	1,000	
Tyr	3000	4	3,43300			Asp +	2000	4	5,71725		
	2500	4	3,43550	3,43550			2500	4	5,71950		
	2000	4		3,43825			3000	4		5,73600	
	Sig.		0,104	0,076			Sig.		0,404	1,000	
Val	3000	4	4,88875			Asn	2500	4	15,87125		
	2000	4		4,92850			3000	4		15,89175	
	2500	4			4,93625		Sig.		1,000	1,000	1,000
Glu +	3000	4	13,8345			Gly	3000	4	5,22750		
	Sig.		1,000	1,000	1,000		2000	4		5,23675	
Gln	2000	4		13,9045		Ala	2500	4		5,24150	
	2500	4			13,9665		2500	4			5,24150
	Sig.		1,000	1,000	1,000		Sig.		1,000	1,000	1,000
Arg	3000	4	8,33250			Pro	2000	4	4,52650		
	2500	4		8,34200			2500	4		4,53375	
	2000	4			8,37975		3000	4			4,57550
	Sig.		1,000	1,000	1,000		Sig.		1,000	1,000	1,000
Pro	2500	4	3,59575				2500	4		3,61625	
	3000	4		3,61625			2000	4			3,62025
	2000	4			3,62025		Sig.		1,000	1,000	1,000
	Sig.		1,000	1,000	1,000						

Con respecto a los bloques de perlado, con la prueba tukey (ver tabla 52), se determinó que en la mayoría de los casos aumenta la concentración significativamente, excepto en los siguientes aminoácidos: leucina, fenilalanina y triptófano. Este comportamiento, se debe a que la mayoría de los aminoácidos, están en mayor proporción en el grano molido, que en la cascarilla, pero los tres aminoácidos que disminuyen su concentración, se encuentra en mayor proporción en el pericarpio, debido a que tienen carácter no polar y facilita la interacción con la grasa del cascarilla.^(5, 57)

Tabla 52: Prueba tukey para los aminoácidos en los diferentes bloques de perlado

AA	(%)	N	1	2	3	4	AA	(%)	N	1	2	3	4	
His	0	3	3,21667				Ile	0	3	4,35033				
	10	3	3,22100					10	3	4,35567				
	30	3		3,22700				30	3		4,36400			
	50	3			3,23233			50	3			4,37233		
	Sig.		0,070	1,000	1,000			Sig.		0,057	1,000	1,000		
Leu	50	3	7,38267				Lys	0	3	7,57667				
	30	3		7,41867				10	3		7,58700			
	10	3		7,43100				30	3			7,60167		
	0	3			7,46733			50	3				7,61467	
Sig.		1,000	,308	1,000		Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Met	0	3	1,33100				Phe	50	3	4,47700				
Y	10	3	1,33200	1,33200		30		3		4,49600				
Cys	30	3		1,33300	1,33300		10	3			4,52767			
	50	3			1,33400		0	3			4,54267			
Sig.		0,167	0,167	0,167		Sig.		1,000	1,000	0,058				
Tyr	0	3	3,42867				Thr	0	3	5,70967				
	10	3		3,43300				10	3		5,71867			
	30	3			3,43767			30	3			5,72900		
	50	3				3,44300		50	3				5,73967	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Trp	50	3	1,62400				Val	0	3	4,90533				
	30	3		1,70467				10	3		4,91300			
	10	3			1,80967			30	3			4,92200		
	0	3			1,86867			50	3				4,93100	
Sig.		1,000	1,000	0,098		Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Asp	0	3	15,8703				+	0	3	13,8713				
	10	3	15,8833			10		3		13,8897				
Asn	30	3		15,9027			30	3			13,9127			
	50	3		15,9150			50	3				13,9337		
Sig.		0,114	0,135			Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Gly	0	3	5,22233				Arg	0	3	8,33033				
	10	3		5,23033				10	3		8,34167			
	30	3			5,23967			30	3			8,35933		
	50	3				5,24867		50	3				8,37433	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Ala	0	3	4,52933				Pro	0	3	3,60267				
	10	3		4,53833				10	3		3,60733			
	30	3			4,55133			30	3			3,61367		
	50	3				4,56200		50	3				3,61933	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		

Es importante anotar un aumento significativo en la concentración de los aminoácidos metionina y cisteína, cuando se realizó el perlado del 30 y 50% con respecto al grano integral, pero no es lo suficientemente efectivo para que se alcance la concentración adecuada de estos aminoácidos en el grano.

Con respecto al aminoácido serina, no hay diferencia significativa con respecto a la zona, pero si con respecto al perlado (ver tabla 53).

Tabla 53: Anova de un factor para el aminoácido serina.

	Zona					Perlado				
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,000	2	0,000			0,000	2	0,000		
Intra-grupos	0,001	9	0,000	0,424	0,667	0,000	6	0,000	12,424	0,007
Total	0,001	11				0,000	8			

Para determinar que porcentajes de perlado hay diferencia significativa en la concentración de serina, se muestra en la tabla 53, donde hay diferencia significativa entre los bloques del grano integral y el bloque de perlado del 30%

Tabla 53: Prueba Tukey para los bloques de perlado en la serina.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
0	3	4,17667	
10	3	4,18067	4,18067
30	3		4,18700
	Sig.	0,215	0,052

7.5. Análisis del efecto de perlado en la digestibilidad del grano.

Un factor importante para tener en cuenta, es la digestibilidad, ya que el producto puede tener una buena o mala composición proximal, pero si no tiene una buena digestibilidad, su calidad disminuirá, ya que el cuerpo humano no será capaz de absorber los aminoácidos y proteínas. En la tabla 54 se observan los datos obtenidos. Se puede ver un incremento en la digestión *in vitro* de la proteína, a

medida que aumenta el porcentaje eliminado del pericarpio, pero es importante evaluar cómo afecta el proceso de perlado la digestibilidad, a través del análisis estadístico. En este caso no se realizará el análisis intrazonal ni intraperlado, solo se hará el análisis de bloques, para la altura y el perlado.

Tabla 54: Digestibilidad del grano en cada experimento.

Exp	Digestibilidad	Exp	Digestibilidad	Exp	Digestibilidad
E ₁₁	60,375	E ₂₁	60,875	E ₃₁	60,916
E ₁₂	61,779	E ₂₂	62,014	E ₃₂	61,451
E ₁₃	68,146	E ₂₃	67,948	E ₃₃	68,004
E ₁₄	68,273	E ₂₄	68,233	E ₃₄	68,389

Se realizó primero una determinación de la normalidad (ver tabla 55), resultando que todos los datos son normales, por lo cual se pueden usar pruebas paramétricas, ya que el $P_{valor} \geq 0,05$.

Tabla 55: Prueba de Shapiro-Wilk, para los bloques de perlado y zona de la digestibilidad del grano.

Factor	Nivel	Estadístico	gl	Sig.
Zona (msnm)	2000	0,811	4	0,124
	2500	0,814	4	0,130
	3000	0,785	4	0,077
Perlado (%)	0	0,806	3	0,130
	10	0,991	3	0,818
	30	0,941	3	0,531
	50	0,927	3	0,476

Se procedió a determinar la homogeneidad de las varianzas, dando $P_{valor} \geq 0,05$, por lo cual, la varianza de los bloques son homocedásticas (ver tabla 56).

Tabla 56: Prueba de Levene para los bloques de perlado y zona de la digestibilidad del grano.

Factor	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Zona	0,304	2	9	0,745
Perlado	2,568	3	8	0,127

A continuación, se realizó el anova por bloques (ver tabla 57), donde se observa una diferencia significativa entre los bloques de perlado.

Tabla 57: Anova por bloques de altura y perlado, para la digestibilidad del grano.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	0,032	2	0,016	0,275	0,769
Perlado	145,780	3	48,593	847,958	0,000
Error	0,344	6	0,057		
Total	146,156	11			

Se determinó la diferencia entre los diferentes bloques de perlado, por medio de la prueba Tukey (ver tabla 58), y se observó una diferencia significativa entre todos los bloques de perlado, excepto entre la quinua perlada al 30 y 50%, esto sucede, ya que al eliminar la cascarilla, las proteínas quedan libres para que el sistema gastrointestinal absorba mejor las proteínas que se hayan en el grano.

Tabla 58: Prueba Tukey para los bloques de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	3	60,72200		
10	3		61,74800	
30	3			68,03267
50	3			68,29833
Sig.		1,000	1,000	0,564

La digestibilidad se incrementó en un 11,57%, al comparar el valor más bajo de digestibilidad, que se obtuvo en el grano integral cultivado a los 2000 msnm y el valor más alto que se obtuvo en el grano perlado del 50% y cultivado a los 3000 msnm (ver ecuación 19).

Ecuación 19:
$$\frac{\text{Digestibilidad } 50\% - \text{Digestibilidad } 0\%}{\text{Digestibilidad } 0\%} \times 100\%$$

$$\frac{68,273\% - 60,375\%}{68,273\%} \times 100\% = 11,57\%$$

Con respecto a la digestibilidad del grano de quinua, se debería realizar un estudio para incrementar el porcentaje de proteína que el ser humano pueda absorber, ya que no alcanza a llegar al 69%.

7.6. Estandarización del CLAR-DAD para cuantificar saponinas.

En la estandarización se determinaron que el flujo, fue de 1mL/min (Ver grafica 1). Los datos que se encuentran en la tabla 59, donde hay un límite de detección y cuantificación en ng/mL; el rango lineal tiene un amplio intervalo en ambos patrones, cercano a los valores reportados para saponinas en otros cultivos. Dini y colaboradores,⁽⁵⁹⁾ han reportado que el LOD es 70,2 y 65,1, valores muy cercanos a los obtenidos.

Grafica 1: Curva de van Deemter.

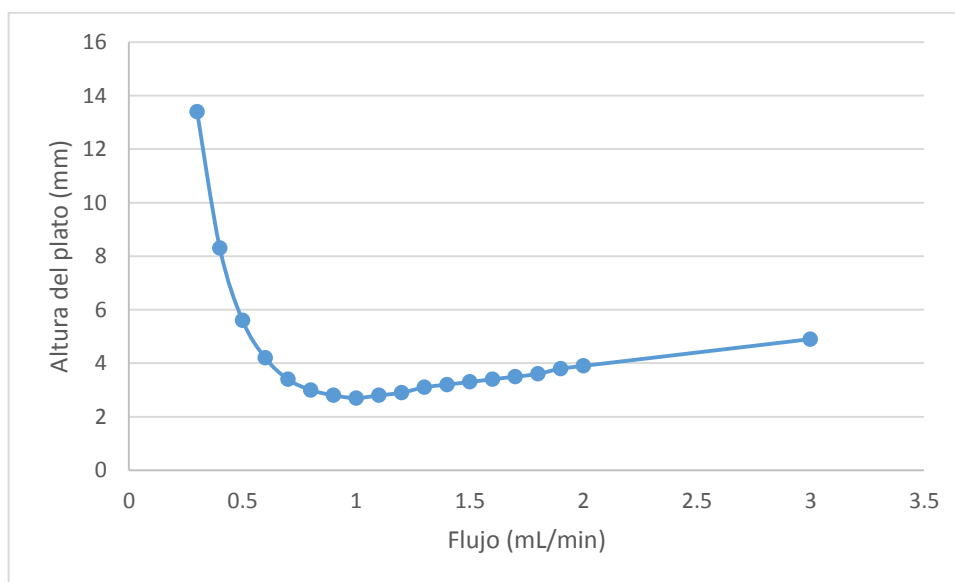


Tabla 59: Valores obtenidos de LOD, LOQ, rango lineal.

	Saponina 10 ^a	Saponina 16 ^b
LOD (ng/mL)	70,4	73,2
LOQ (ng/mL)	234,7	244,0
Rango lineal (mg/mL)	0,009-0,210 ^c	0,015-0,382 ^d

^a ácido 3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc fitolacagénico ^b ácido 3-Glc-(1→3)-Ara fitolacagénico
^c R² 0,991 ^d R² 0,996

Un punto muy importante, es la buena precisión que tiene el método, ya que el porcentaje de error es del 3%, permitiendo una buena repetibilidad y reproducibilidad (ver tablas 60 y 61 respectivamente).

Tabla 60: Repetibilidad del método CLAR-DAD (mg/100g quinua).

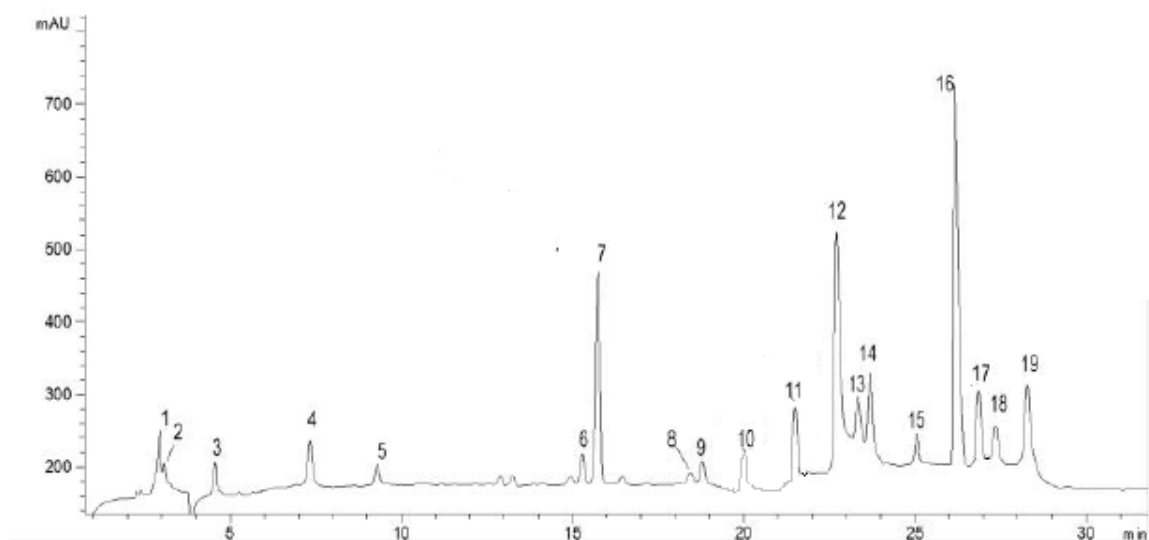
Saponina	1	2	3	4	5	6	Promedio	Error
10	15,81	16,02	15,08	14,82	15,39	15,75	15,48	3,00
16	19	18,11	17,95	18,639	19,32	18,44	18,58	2,81

Tabla 61: Reproducibilidad del método CLAR-DAD (mg/100g quinua).

Saponina	Día 1		Día 2		Día 3	
	Promedio	Error	Promedio	Error	Promedio	Error
10	15,48	3,00	15,30	2,92	15,81	2,65
16	18,58	2,81	18,85	2,09	18,80	2,30

Con respecto a la figura 8, se observa una buena separación entre las diferentes saponinas que se encuentran en la quinua, aunque se pudieron solapar. Con respecto a la especificidad, se pudo determinar, que las sapogeninas. No generan ningún problema, debido a que las sapogeninas tienen baja polaridad, por lo cual, el fluir por lo columna se les va a dificultar.

Figura 8: Cromatograma de la quinua.



Para la determinación de las saponinas en la quinua, se utilizó este método que se estandarizó.

7.7. Análisis del efecto de perlado en la concentración de saponinas.

En el grano de quinua cultivado en el municipio de Bolívar en las diferentes zonas, la concentración de saponinas, cuando no se le ha realizado ningún proceso de perlado (0% y/o pérdida de peso de 0,000g) es entre 0,301 y 0,295% (ver tabla 62), siendo un ecotipo agrio, por lo cual se tiene la necesidad de desaponificación.

Tabla 62: Porcentaje de saponinas en el grano de quinua.

Exp	Perdida de material (%)	Saponina ^a (%)
E ₁₁	0,0	0,295 ± 0,003
E ₁₂	1,3	0,235 ± 0,004
E ₁₃	3,1	0,085 ± 0,002
E ₁₄	5,3	0,063 ± 0,002
E ₂₁	0,0	0,299 ± 0,002
E ₂₂	1,1	0,223 ± 0,002
E ₂₃	3,3	0,088 ± 0,003
E ₂₄	5,2	0,059 ± 0,003
E ₃₁	0,0	0,301 ± 0,003
E ₃₂	1,4	0,253 ± 0,003
E ₃₃	3,3	0,079 ± 0,003
E ₃₄	5,3	0,052 ± 0,002

^a Promedio del porcentaje de tres datos

De acuerdo con los datos obtenidos, con un 10% de perlado no se logra la concentración adecuada para el consumo humano, pero a 30 y 50%, la concentración de saponinas en el grano, es el adecuado; esto sucede porque al 10%, el perlado es muy superficial y no elimina la cantidad de saponinas requeridas disminuyéndolas alrededor del 14,2% (ecuación 20), en cambio al 30 y 50% de perlado hace un descascarado más profundo, generando que la mayoría de las saponinas sean eliminadas del grano.

Ecuación 20: $100\% - \frac{\% \text{ Saponinas finales}}{\% \text{ Saponinas iniciales}} \times 100\% = 100\% - \frac{0,253\%}{0,295\%} \times 100\% = 14,2\%$

Al compararlos con estudios reportados, como el de Gómez-Caravaca y colaboradores en el año 2014⁽⁸⁾ quienes reportan que a 20% se elimina alrededor del 50% de saponinas, pero no se logra una concentración adecuada de las mismas, ya que el grano permanece con una concentración de 0,1298%, pero a 30% se obtiene una quinua con 0,05088% se eliminó el 79% de la saponina inicial y logra tener una concentración adecuada, en el proceso de perlado que se realizó, se disminuyó entre el 71 y 74% cuando se hizo un 30% de perlado.

Para determinar si hay o no, diferencia significativa entre los intrabloques, bloques de perlado y bloques de zona, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk (ver tabla 63, 64 y 65 respectivamente). En cada experimento y los bloques de perlado, se obtuvo un $P_{valor} \geq 0,050$, por lo cual se usarán pruebas paramétricas, en cambio a los bloques de las zonas, ningún bloque tiene comportamiento normal, se utilizarán pruebas no paramétricas.

Tabla 63: Prueba de Shapiro-Wilk de cada experimento para la concentración de saponinas.

Exp	Est	Gl	Sig.	Exp	Est	Gl	Sig.	Exp	Est	gl	Sig.
E ₁₁	0,871	3	0,298	E ₂₁	0,980	3	0,726	E ₃₁	0,893	3	0,363
E ₁₂	0,923	3	0,463	E ₂₂	0,993	3	0,843	E ₃₂	0,942	3	0,537
E ₁₃	0,964	3	0,637	E ₂₃	0,893	3	0,363	E ₃₃	0,987	3	0,780
E ₁₄	0,964	3	0,637	E ₂₄	1,000	3	1,000	E ₃₄	0,923	3	0,463

Tabla 64: Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de perlado para la concentración de saponinas.

Perlado (%)	Est	gl	Sig.
0	0,951	9	0,696
10	0,903	9	0,270
30	0,976	9	0,938
50	0,938	9	0,564

Tabla 65: Prueba de Shapiro-Wilk por bloque de zona para la concentración de saponinas.

Zona (msnm)	Est	GI	Sig.
2000	0,793	12	0,008
2500	0,820	12	0,016
3000	0,779	12	0,005

En los datos que son normales, se procedió a realizar el test de Levene, para determinar, si las varianzas son homocedásticas (ver anexo 30, 31 y 32), En los resultados para intrazonales e intraperlados, las varianzas son homogéneas, ya que el $P_{valor} \geq 0,050$ es decir, que tienen un comportamiento similar, por lo cual se puede utilizar el análisis de varianza; en el caso de los bloques de perlado, las varianzas son heterogéneas, por lo cual hay que hacer un análisis de varianzas heterogéneas.

En cada intrazona se realizó la prueba anova (ver tabla 66), donde se obtuvo que hay diferencia significativa, es decir que los diferentes niveles de perlado genera una diferencia significativa en la concentración de saponinas, ya que el $P_{valor} < 0,050$; se procedió a realizar el test de tukey (ver anexos 33, 34 y 35), para determinar entre que porcentajes de perlado hay la diferencia significativa.

Tabla 66: Anova para la concentración de saponinas intrazonal.

Zona (msnm)		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
2000	Inter-grupos	0,116	3	0,039	4768,921	0,000
	Intra-grupos	0,000	8	0,000		
	Total	0,116	11			
2500	Inter-grupos	0,116	3	0,039	7130,764	0,000
	Intra-grupos	0,000	8	0,000		
	Total	0,116	11			
3000	Inter-grupos	0,139	3	0,046	6689,201	0,000
	Intra-grupos	0,000	8	0,000		
	Total	0,139	11			

Se determina que todas las intrazonas, el porcentaje de perlado tienen un efecto significativo en la concentración de las saponinas en el grano, dándose una relación inversamente proporcional; este comportamiento se debe a que el perlado elimina el perispermo del grano, donde se encuentran las saponinas.

Al analizar cómo afecta la zona en cada intrabloque (ver anexo 36), la concentración de saponinas en el grano entero no presenta una diferencia significativa ya que $P_{valor} \geq 0,050$, pero Curti y colaboradores en el 2014,⁽⁵⁸⁾ ha publicado que los granos obtenidos en cultivos a mayor altura, tienen un porcentaje de saponinas menor. En nuestro caso, no hay esa diferencia significativa, ya que la concentración de las saponinas, se ve afectada por diversas variables como: las plagas, la humedad, el tamaño del grano, entre otras.

En el intrabloque de perlado del 10%, en todas las zonas tienen diferencias significativas (ver anexo 37),

A un 30% de perlado, en las únicas zonas que se haya una diferencia significativa es el grano de quinua que se cultivó a 2500 y 3000 msnm (ver anexo 38);

Con respecto al perlado del 50% (ver anexo 39), la quinua sembrada a 3000 msnm, tiene una diferencia significativa con respecto a las otras dos zonas.

Con respecto a los bloques de perlado, al ser la varianza heterogénea, entonces se procedió a realizar la prueba anova (ver anexo 40). Se muestra que los diferentes bloques de perlado tiene diferencia significativa entre ellos, ya que el $P_{valor} < 0,050$; para determinar entre que bloques hay la diferencia, se procedió a realizar la prueba de T3 de Dunnett (ver tabla 41). En este caso, hay también diferencias significativas entre todos los niveles de perlado, por lo cual el perlado afecta en la concentración de las saponinas,

Por otro lado el bloque de las zonas (ver tabla 67), se determina a través de la prueba kruskal Wallis, ya que los datos no son normales, resultando que los

bloque de las zonas, no afecta significativamente en la concentración de saponinas porque el $P_{valor} \geq 0,050$.

Tabla 67: Prueba Kruskal-Wallis para la concentración de saponinas por bloque de zona.

N total	Estadístico	gl	Sig.
36	0,012	2	0,994

En general, el perlado afecta la concentración de saponinas en el grano de quinua, disminuyendo su contenido, donde tienen una relación inversamente proporcional, bien sea en los intrabloques o entre los bloques. En el caso de las zonas y su relación con las saponinas, se determina que los bloques zonales, no tiene ningún efecto significativo, pero si hay diferencias significativas, internamente en los bloques.

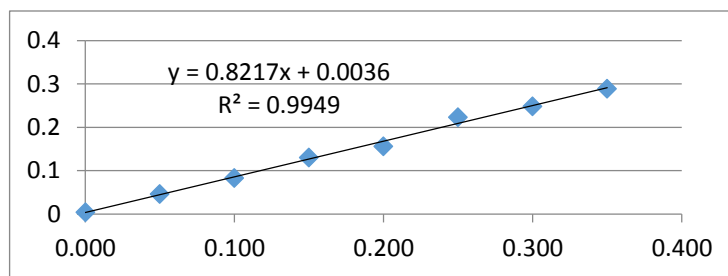
7.8. Evaluación de las saponinas por la metodología Liebermann-Burchard y comparación con CLAR-DAD

Este método es relativamente fácil para cuantificar las saponinas; el inconveniente con este procedimiento es que no es específico para las saponinas, entonces las sapogeninas van hacer cuantificadas, generando un mayor error que el CLAR-DAD, De todas maneras, es un buen método para cuantificar en las fincas el contenido de saponinas. Los datos obtenidos (ver tabla 68 y gráfica 2), tienen un comportamiento muy similar a lo reportado por Lozano y colaboradores en el año 2012, donde obtuvieron una ecuación $Y=0,912X-0,003$, con un $r=0,995$.⁽⁴²⁾

Tabla 68: Curva de calibración Liebermann-Burchard.

Concentración (mg/ml)	0,000	0,050	0,100	0,150	0,200	0,250	0,300	0,350
Absorbancia	0,004	0,046	0,083	0,130	0,156	0,223	0,248	0,289

Grafica 2: Curva de calibración de saponinas por Liebermann - Burchard



Los datos obtenidos por Liebermann–Burchard, se compararon con los datos obtenidos por CLAR-DAD (Ver tabla 69). Se les hizo, una prueba t de emparejamiento, para determinar si hay diferencia significativa entre ambas metodologías. La t de emparejamiento dio 3,514 y la teórica con un 95% de confianza, es 2,205, por lo cual hay una diferencia significativa entre ambas metodologías. Este comportamiento se debe a que el método de Liebermann-burchard, cuantifica también otras sustancias como las saponinas, incrementándose el error, además, el CLAR tiene menos error, porque en la columna se da una separación de impurezas que afectan el proceso de cuantificación.

Tabla 69: Porcentaje de saponinas en el grano de quinua.

Exp	Liebermann-Burchard	CLAR-DAD	d=LB-CLAR
E ₁₁	0,301	0,295	0,006
E ₁₂	0,258	0,235	0,023
E ₁₃	0,091	0,085	0,006
E ₁₄	0,081	0,063	0,018
E ₂₁	0,302	0,299	0,003
E ₂₂	0,261	0,223	0,038
E ₂₃	0,090	0,088	0,002
E ₂₄	0,063	0,059	0,004
E ₃₁	0,308	0,301	0,007
E ₃₂	0,264	0,253	0,011
E ₃₃	0,083	0,079	0,004
E ₃₄	0,059	0,052	0,007
	Promedio		0,011
	Desviación estándar		0,011
	t _{real}		3,514

7.9. Análisis del efecto de perlado en la concentración de vitaminas.

Las vitaminas son muy importantes para el ser humano, por lo cual también es importante determinar cómo afecta el proceso de perlado en la concentración de vitaminas liposolubles e hidrosolubles; por los costos de este proceso, solo se hizo una vez para cada experimento del diseño experimental, por lo cual solo se podrá realizar el análisis estadístico por bloques de perlado y zona, pero no internamente en los bloques.

En el anexo 42 está la curva de calibración para las vitaminas hidrosolubles.

Todas las vitaminas en la semilla integral se encuentran en los intervalos a los valores que han sido reportados por Padron y colaboradores (Ver tabla 70), pero en las vitaminas B6 y B12, hay una concentración menor a lo reportado, pero en este caso, los valores reportados no son intervalos, sino un valor único, pero este comportamiento se debe a las condiciones del suelo donde fue cultivada la quinua y la pluviosidad de cada zona.^(15, 24, 57)

Tabla 70: Vitaminas liposolubles e hidrosolubles en quinua (mg/100g de muestra).⁽⁵⁷⁾

Exp	B1	B2	B3	B6	B12	A	D	E
E ₁₁	0,439	0,174	0,181	0,520	0,149	0,411	0,183	2,365
E ₁₂	0,402	0,152	0,134	0,478	0,121	0,231	0,130	1,583
E ₁₃	0,388	0,139	0,110	0,426	0,110	0,096	0,067	0,430
E ₁₄	0,373	0,121	0,099	0,410	0,106	ND	0,011	0,214
E ₂₁	0,451	0,165	0,184	0,513	0,152	0,398	0,188	2,427
E ₂₂	0,397	0,144	0,142	0,471	0,123	0,194	0,141	1,710
E ₂₃	0,386	0,135	0,118	0,434	0,111	0,083	0,082	0,489
E ₂₄	0,371	0,128	0,106	0,406	0,094	ND	0,030	0,325
E ₃₁	0,434	0,159	0,189	0,525	0,138	0,392	0,179	2,511
E ₃₂	0,392	0,140	0,137	0,486	0,117	0,184	0,117	1,819
E ₃₃	0,387	0,124	0,122	0,419	0,102	0,076	0,075	0,516
E ₃₄	0,369	0,116	0,109	0,402	0,090	ND	0,021	0,283
Reporte min	0,360	0,056	0,562	0,772	0,160	0,120	0,180	1,160
Reporte max	0,830	0,300	2,440			0,530		5,370

En general se puede observar que la concentración de las vitaminas disminuyen a medida que se incrementa el perlado, incluso se llega a no poder determinar vitamina A en el grano cuando se realiza un 50% de perlado; con respecto a las zonas, se observa que en algunas vitaminas se incrementa a mayor altura este el cultivo, por ejemplo la vitamina E, pero en otras disminuye como la B2. Se realizará el análisis estadístico que se ha realizado con los procesos anteriores, para determinar si hay o no diferencias significativas.

En la prueba de Shapiro-Wilk (ver tabla 71), se pudo determinar que todos los datos tienen un comportamiento normal, por lo cual se pueden realizar pruebas paramétricas, excepto para la vitamina A cuando se realiza un perlado del 50%, ya que no es posible determinar la normalidad, ya que no hubo presencia de esta vitamina, en ninguno de los casos.

Tabla 71: Prueba de Shapiro-Wilk para las vitaminas.

Factor	Nivel	Dato	B1	B2	B3	B6	B12	A	D	E
Zona (msnm)	2000	Est	0,949	0,997	0,916	0,938	0,872	0,975	0,987	0,912
		Gl	4	4	4	4	4	4	4	4
		Sig	0,708	0,991	0,517	0,639	0,307	0,874	0,942	0,493
	2500	Est	0,886	0,937	0,933	0,983	0,979	0,958	0,985	0,896
		Gl	4	4	4	4	4	4	4	4
		Sig	0,367	0,634	0,613	0,922	0,895	0,765	0,932	0,410
	3000	Est	0,913	0,958	0,895	0,922	0,980	0,949	0,998	0,903
		Gl	4	4	4	4	4	4	4	4
		Sig	0,496	0,769	0,405	0,548	0,902	0,710	0,995	0,446
Perlado (%)	0	Est	0,947	0,987	0,980	0,991	0,902	0,957	0,996	0,992
		Gl	3	3	3	3	3	3	3	3
		Sig	0,554	0,780	0,726	0,817	0,391	0,600	0,878	0,834
	10	Est	1,000	0,964	0,980	0,999	0,964	0,901	0,998	0,998
		Gl	3	3	3	3	3	3	3	3
		Sig	1,000	0,637	0,726	0,927	0,637	0,388	0,908	0,916
	30	Est	1,000	0,932	0,964	0,999	0,832	0,971	0,999	0,956
		Gl	3	3	3	3	3	3	3	3
		Sig	1,000	0,497	0,637	0,927	0,194	0,672	0,927	0,596
	50	Est	1,000	0,991	0,949	1,000	0,923		0,999	0,981
		Gl	3	3	3	3	3	NR	3	3
		Sig	1,000	0,817	0,567	1,000	0,463		0,942	0,734

A continuación, se realizó la prueba de Levene a los datos normales (ver anexo 43), resultando que todas las variables tienen varianzas homocedásticas.

El análisis de varianzas por bloque para todas las vitaminas excepto la vitamina A (Ver anexo 44 y 45), se determinó que el perlado afecta significativamente en la concentración de todas las vitaminas en el grano desaponificado; con respecto a las zonas, las vitaminas que no se ven afectadas significativamente son: B1 y B6.

La prueba Tukey me determinó entre que niveles hay la diferencia significativa entre los bloques de zonas (ver anexo 46). En todos los casos hay diferencia significativa entre los granos cultivados a 2000 y 3000 msnm, con respecto a 2500 msnm, solo tiene diferencia significativa con el de 3000 msnm, pero en la vitamina B3. Este comportamiento se debe a que en cada zona, hay factores que pueden generar que se aumente o disminuya la concentración significativamente como: la nutrición del suelo, el clima entre otras. Por lo cual se debería realizar un análisis más detallado donde se tenga más control sobre estas variables y se pueda determinar con una buena precisión el efecto que tiene la altura donde se cultive la quinua, en la concentración de las diferentes vitaminas en el grano.

Un punto muy interesante es el resultado de la vitamina D, en el que el análisis de varianzas por bloque, indica que hay una diferencia significativa, pero la prueba Tukey indica lo contrario, se debe a que la prueba Tukey no alcanza a determinar esa diferencia. Como es dudoso se recurre al test de Duncan que es menos conservador y nos dejara claro esta situación (ver anexo 47), donde se determina que hay una diferencia significativa en el caso de la quinua cultivada a los 2500 msnm, con respecto a la quinua que se cultivó en las otras dos alturas.

Para determinar entre que niveles hay diferencia significativa en los bloques de perlado, se procedió a realizar la prueba Tukey (ver anexo 48). Se comprobó que cinco de las siete vitaminas disminuyendo significativamente en todos los niveles, porque las vitaminas se encuentran en el pericarpio, y al desaponificar el grano, se

pierde el pericarpio del grano, disminuyendo significativamente la concentración de las vitaminas.

En el caso de la vitamina B1 y B6, hay dos niveles que no hay diferencia significativa, de resto si hay diferencias, este comportamiento es producido porque en el caso de la vitamina B1, esta sustancia está ubicada en esta parte del pericarpio, en baja concentración, por lo cual no alcanza a ser significativa; En la vitamina B6 los dos niveles que no hay diferencia significativa es entre 30 y 50%, esto sucede porque la vitamina que está en el pericarpio, se encuentra en mayor parte en la parte externa, pero en la mitad del pericarpio, la concentración de vitamina es baja, y a la hora de realizar el proceso de perlado, no alcanza a marcar una diferencia significativa.

Con respecto a la vitamina A se procedió a realizar el anova de una sola vía (ver anexo 49), donde no hay diferencia significativa con respecto a las zonas, por lo cual, las diversas condiciones climáticas y fisicoquímicas del suelo, que fueron sometidas las plantas de quinua, no afectaron la concentración de la vitamina A, pero si se ve afectada con respecto a la variable perlado.

Para determinar entre que niveles hay esa diferencia, se procedió a realizar la prueba Tukey (ver anexo 50), resultando que en todos los casos hay diferencia significativa, ya que el proceso elimina de manera progresiva la vitamina, de tal manera que a 50%, no se pudo determinar la concentración.

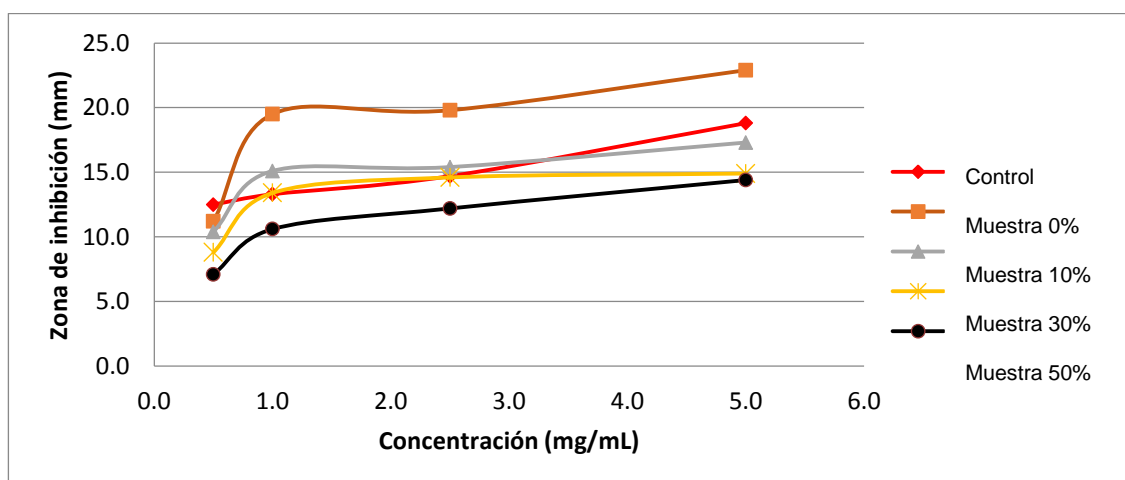
7.10. Evaluación de actividad antibacteriana de las saponinas.

Para la bacteria *E. coli*, el grano integral, tiene un mejor comportamiento que el control, cuando la concentración es mayor 0,5 mg/ml (ver tabla 72 y gráfica 3), pero el perlado en todos los casos, es menos efectivo en todas las concentraciones; esto se debe, a que el perlado no extrae todas las saponinas, en cambio en el grano integral, tiene toda la variedad de saponinas y se puede dar un sinergismo.

Tabla 72: Inhibición en mm de *E. coli* de los residuos.

Saponinas (mg/mL)	Control	Muestra 0%	Muestra 10%	Muestra 30%	Muestra 50%
0,5	12,5	11,2	10,4	8,8	7,1
1,0	13,3	19,5	15,1	13,4	10,6
2,5	14,7	19,8	15,4	14,6	12,2
5,0	18,8	22,9	17,3	14,9	14,4

Gráfica 3: Actividad biológica de los cuatro residuos contra el *E. coli*.

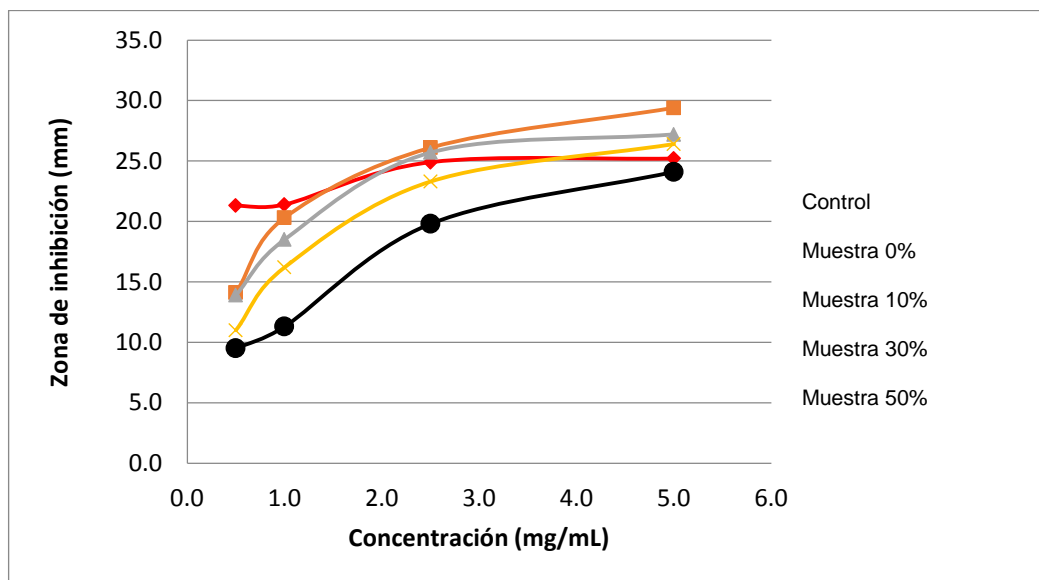


Para la bacteria *K. pneumoniae* (ver tabla 73 y gráfica 4), se observa que una concentración menor a 1 mg/mL, tiene una inhibición menor al control, pero el perlado un 10% y el grano integral, tienen mayor inhibición que el control, esto se debe a que un 10% de perlado, tiene la saponina adecuada para contrarrestar al microorganismo, en mayor proporción que el perlado al 30% y 50%, en el caso del grano integral, se tiene todas las saponinas, por lo cual se mejora los posibles sinergismos que se puedan dar, que en los otros casos, al no estar todas las saponinas, el sinergismo es menor.

Tabla 73: Inhibición en mm de *K.pneumoniae* de los residuos.

Saponinas (mg/mL)	Control	Muestra 0%	Muestra 10%	Muestra 30%	Muestra 50%
0,5	21,3	14,1	13,9	11,0	9,5
1,0	21,4	20,3	18,5	16,2	11,3
2,5	24,9	26,1	25,7	23,3	19,8
5,0	25,2	29,4	27,2	26,4	24,1

Gráfica 4: Actividad biológica de cuatro residuos contra el *K.pneumoniae*.

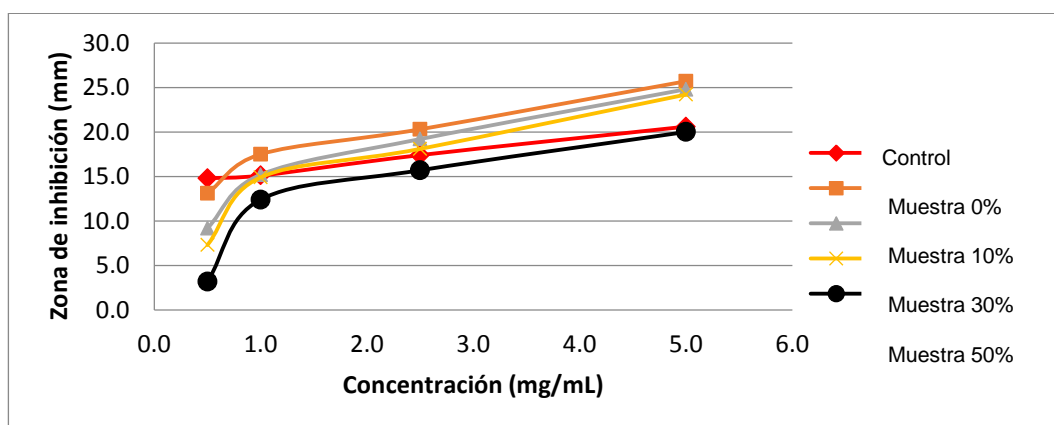


Con respecto a la inhibición de la *S. aureus* (ver tabla 74 y gráfica 5), se tienen la actividad antibacteriana, en todos los casos, pero al tener una concentración mayor del 2,5 mg/mL, excepto las saponinas extraídas de los residuos del perlado al 50%, el resto tiene una actividad mayor que el control.

Tabla 74: Inhibición en mm de *S.aureus* de los residuos.

Saponinas (mg/mL)	Control	Muestra 0%	Muestra 10%	Muestra 30%	Muestra 50%
0,5	14,8	13,1	9,2	7,3	3,2
1,0	15,1	17,5	15,2	14,9	12,4
2,5	17,4	20,3	19,2	18,1	15,7
5,0	20,6	25,7	24,8	24,2	20,0

Grafica 5: Actividad biológica de cuatro residuos contra el *S.aureus*.



En todos los casos, hay actividad antibacteriana, pero el grano integral es el que más actividad tiene; en el caso de los residuos del perlado, el mejor antibacteriano, es el residuo del 10%, después el de 30% y el peor de todos el 50%, por lo cual es importante, realizar el proceso de perlado en dos etapas, para obtener el 10% de residuos, y después terminar de hacer el otro 20%, para tener las mejores condiciones de actividad antibacterial.

8. Conclusiones

- La concentración de saponinas en quinua de 0,11%, la cual se puede considerar adecuada para el consumo humano, se alcanza con perlados de 30 y 50% en cualquiera de las tres zona evaluadas
- Se incrementa un 11,56% de la digestibilidad de la proteína en la quinua, mediante el proceso de perlado a niveles de 30 y 50%, sin embargo, la digestibilidad no se ve afectada por la zona donde fue cultivada.
- El proceso de perlado aumenta significativamente la concentración de todos los aminoácidos, excepto por leucina, fenilalanina y triptófano, que disminuyen significativamente, pero en los tres casos no bajan de la concentración mínimo requerida por una persona, además la zona donde se cultiva la quinua, afecta significativamente a los aminoácidos, excepto al triptófano
- El proceso de perlado afecta negativamente la concentración de las vitaminas en el grano de quinua, incluso se llega a eliminar el cien por ciento de la vitamina A.
- Para conservar las mejores condiciones del grano con respecto a la concentración de saponinas, composición proximal, aminoácidos, digestibilidad de la proteína y vitaminas., es mejor nivel de perlado es 30%.
- Se determinó que la cuantificación de saponinas por CLAR-DAD tiene un porcentaje de error menor o igual a 3%, en la reproducibilidad y repetibilidad, lo que indica que es un método confiable para este proceso.
- En la cuantificación de saponinas, hay dos metodologías que son CLAR-DAD y Liebermann-Burchard, resultando que hay una diferencia significativa en los resultados, siendo más precisa CLAR-DAD.
- El grano integral, tiene mejor actividad antibacteriana, que los residuos del perlado, y a medida que aumento el perlado, se va perjudicando la actividad, ya que tienen una relación inversamente proporcional.

9. RECOMENDACIONES

- Realizar un procedimiento para mejorar la digestibilidad de la quinua desaponificada, ya que apenas se logra absorber alrededor del 68%, que de y se debería absorber alrededor del 92%
- Realizar una corrección matemática para el proceso de cuantificación Liebermann-Burchard.
- Analizar el efecto de las variables perlado y la zona, a los demás municipios del departamento del Cauca.
- Realizar el proceso de perlado en dos etapas, primero sacar el 10% y después el resto, para poder sacar más provecho de las saponinas existentes en el residuo que se obtiene del perlado.

ANEXOS

Anexo 1: artículo

Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm., Vol. 45(3), 438-469, 2016

www.farmacia.unal.edu.co

Artículo de revisión / <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>

Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico

Andrés Ahumada¹, Andrés Ortega², Diana Chito³, Ricardo Benítez^{1*}

¹ Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales, Universidad del Cauca, Edificio de los Laboratorios, Carrera 2ª con calle 15 esquina, Sector Tulcán, 190003 Popayán, Colombia

² Fundación Universitaria de Popayán, Programa de Administración de Empresas Agropecuarias, Popayán, Colombia

³ Departamento de Química, Universidad del Cauca, Edificio de los Laboratorios, Carrera 2ª con calle 15 esquina, Sector Tulcán, 190003 Popayán, Colombia

* Correo electrónico: rbenitez@unicauca.edu.co

Recibido para evaluación: 26 de febrero del 2016

Aceptado para publicación: 25 de noviembre del 2016

RESUMEN

Las saponinas son un tipo de metabolito secundario ampliamente estudiado por sus reconocidas propiedades biológicas. Gran parte de las investigaciones en fitoquímica están dirigidas a encontrar nuevas fuentes naturales de saponinas con aplicación medicinal. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es una planta que ha alcanzado un valioso reconocimiento por ser una fuente de alimentos altamente nutritivos, así como una especie rica en saponinas triterpénicas contenidas, principalmente, en la cáscara de las semillas. A la fecha, se han identificado alrededor de 30 saponinas derivadas de la hederagenina y de los ácidos oleanólico, fitolacagénico y serjanico en la planta. El consumo del grano de quinua implica la remoción de la cáscara a fin de reducir su sabor amargo, la ingesta de niveles residuales de saponinas y la obtención de un subproducto rico en las mismas. Esta revisión, inicialmente, ofrece una contextualización general de las saponinas; posteriormente, recopila las características estructurales de las saponinas identificadas en la quinua, describe el efecto del procesamiento del grano en su contenido de saponinas y, finalmente, expone los efectos biológicos explorados con extractos de saponinas de quinua, los cuales pueden ser considerados como punto de partida en investigaciones futuras dirigidas al fortalecimiento de su uso en el campo farmacéutico y/o nutracéutico.

Palabras claves: Saponinas, *Chenopodium quinoa*, actividad biológica, glucósidos triterpénicos.



REVISIÓN

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) versus soja (*Glycine max* [L.] Merr.) en la nutrición humana: revisión sobre las características agroecológicas, de composición y tecnológicas

Diana María Chito Trujillo^{a,*}, Rubén Andrés Ortega Bonilla^b, Andrés Felipe Ahumada Mamián^a,
Brandón Rosero López^a

^aDepartamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

^bPrograma de Administración de Empresas Agropecuarias, Fundación Universitaria de Popayán, Popayán, Colombia.

*dchito@unicauca.edu.co

Recibido el 26 de junio de 2016; aceptado el 18 de septiembre de 2016; publicado el 26 de junio de 2017.

➤ **Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) versus soja (*Glycine max* [L.] Merr.) en la nutrición humana: revisión sobre las características agroecológicas, de composición y tecnológicas**

PALABRAS CLAVE

Chenopodium quinoa;

Soja;

Química;

Agricultura;

Digestión.

RESUMEN

El diseño de alimentos funcionales a partir de productos vegetales muy estudiados como la soja (*Glycine max* [L.] Merr.) y la potencialización de productos ancestrales como la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) son estrategias factibles para contrarrestar la desnutrición mundial. El objetivo de la presente revisión es describir las características agroecológicas, de composición, nutricionales y tecnológicas de estas dos especies vegetales diferentes (leguminosa y pseudocereal), basado en las publicaciones previas. Se realizó una revisión en bases de datos (Scopus, Web of Science, Scielo) y se complementó con una búsqueda manual en Google Scholar y páginas web de instituciones acreditadas. Los estudios incluidos (n=117) en esta revisión muestran que la soja se adapta mejor a altitudes bajas (~1.000m s. n. m.), mientras que la quinoa lo hace en un rango de mayores altitudes (500-4.000m s. n. m.) con mayor tolerancia a heladas. Ambas son fuente de una alta calidad proteica por suplir los requerimientos de aminoácidos esenciales sugeridos para niños y adultos sin diferencias significativas (p>0,05), particularmente triptófano y lisina y por los altos porcentajes de digestibilidad (>70%). Sus concentraciones bajas de prolaminas y aceptables de Fe, Zn, Ca, daidzeína y genisteína los convierten en productos de interés para la industria alimentaria.



Anexo 3: Prueba Tukey para la composición de humedad intrazonal a 2500 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
0	3	10,9933	
10	3	11,0867	11,0867
30	3	11,2767	11,2767
50	3		11,4733
	Sig.	0,225	0,077

Anexo 4: Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 2500 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	3	1,8067			
10	3		2,0433		
30	3			2,4033	
50	3				2,5500
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 5: Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 2500 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	3	3,9133			
10	3		4,1233		
30	3			4,3533	
50	3				4,4767
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 6: Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 2500 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
0	3	3,3700	
10	3		3,8000
30	3		3,9767
50	3		4,1600
	Sig.	1,000	0,074

Anexo 7: Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 2500 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	3	62,7667		
10	3	63,1100		
30	3		63,5533	
50	3			64,2167
Sig.		0,116	1,000	1,000

Anexo8: Prueba Tukey para la composición de humedad intrazonal a 3000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	3	10,8767		
10	3	11,0200	11,0200	
30	3		11,1867	11,1867
50	3			11,3700
Sig.		0,282	0,186	0,136

Anexo 9: Prueba Tukey para la composición de cenizas intrazonal a 3000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	3	1,7433			
10	3		2,0200		
30	3			2,4100	
50	3				2,5833
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 10: Prueba Tukey para la composición de grasa intrazonal a 3000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	3	4,0067			
10	3		4,1733		
30	3			4,4167	
50	3				4,5700
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 11: Prueba Tukey para la composición de fibra intrazonal a 3000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	3	3,4033		
10	3		3,9300	
30	3		4,2400	4,2400
50	3			4,4300
Sig.		1,000	0,068	0,328

Anexo 12: Prueba Tukey para la composición de ENN intrazonal a 3000 msnm.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	3	62,5333		
10	3	62,8300		
30	3		63,5333	
50	3			64,0767
Sig.		0,313	1,000	1,000

Tabla 13: Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 10%, con respecto a la altura.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	4,2767	
2500	4	4,3533	4,3533
3000	4		4,4167
Sig.		0,067	0,125

Tabla 14: Prueba Tukey para la composición de fibra intraperlado 10%, con respecto a la altura.

Altura (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	3,7467	
2500	4	3,9767	3,9767
3000	4		4,2400
Sig.		0,192	0,132

Anexo 15: Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 10%, con respecto a la altura.

Altura (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	3,5600	
2500	4	3,8000	3,8000
3000	4		3,9300
Sig.		0,119	0,450

Tabla 16: Prueba anova de la composición proximal intraperlado del 50%.

Componente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Humedad	Inter-grupos	0,020	2	0,010		
	Intra-grupos	0,059	6	0,010	1,018	0,416
	Total	0,079	8			
Cenizas	Inter-grupos	0,006	2	0,003		
	Intra-grupos	0,006	6	0,001	3,384	0,104
	Total	0,012	8			
Grasa	Inter-grupos	0,029	2	0,015		
	Intra-grupos	0,008	6	0,001	10,795	0,010
	Total	0,037	8			
Proteína	Inter-grupos	0,054	2	0,027		
	Intra-grupos	0,126	6	0,021	1,278	0,345
	Total	0,179	8			
Fibra	Inter-grupos	0,053	2	0,026		
	Intra-grupos	0,067	6	0,011	2,377	0,174
	Total	0,120	8			
ENN	Inter-grupos	0,087	2	0,044		
	Intra-grupos	0,269	6	0,045	0,974	0,430
	Total	0,356	8			

Anexo 17: Prueba Tukey para la composición de grasa intraperlado 50%, con respecto a la altura.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	3,8700	
2500	4	3,9133	
3000	4		4,0067
Sig.		0,380	1,000

Anexo 18: Prueba Tukey para la composición de grasa por bloque de zona.

Zona(msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
2000	12	4,1500		
2500	12		4,2167	
3000	12			4,2917
Sig.		1,000	1,000	1,000

Anexo 19: Prueba Tukey para la composición de fibra por bloque de zona.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
2000	12	3,6108		
2500	12		3,8267	
3000	12			4,0008
Sig.		1,000	1,000	1,000

Anexo 20: Prueba Tukey para la composición de ENN por bloque de zona.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	4	63,2433	
2500	4	63,4117	63,4117
3000	4		63,5758
Sig.		0,146	0,159

Anexo 21: Prueba Tukey para la composición de humedad por bloque de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
0	9	10,9789		
10	9	11,0844	11,0844	
30	9		11,2567	11,2567
50	9			11,4367
Sig.		0,529	0,138	0,114

Anexo 22: Prueba Tukey para la composición de grasa por bloque de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	9	3,9300			
30	9		4,1267		
10	9			4,3489	
0	9				4,4722
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 23: Prueba Tukey para la composición de fibra por bloque de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	9	3,3333			
30	9		3,7633		
10	9			3,9878	
0	9				4,1667
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 24: Prueba Tukey para la composición de proteína por bloque de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
0	9	15,0800	
10	9	15,1211	
30	9	15,2133	15,2133
50	9		15,3267
	Sig.	0,283	0,423

Anexo 25: Prueba Tukey para la composición de ENN por bloque de perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	9	62,7722			
10	9		63,0744		
30	9			63,5911	
50	9				64,2033
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 26: Prueba Tukey para la composición de cenizas por bloque de perlado.

Composición	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	0,011	2	0,005	4,475	0,022
Perlado	3,149	3	1,050	884,915	0,000
Zona x Perlado	0,036	6	0,006	5,100	0,002
Error	0,028	24	0,001		
Total	3,224	35			

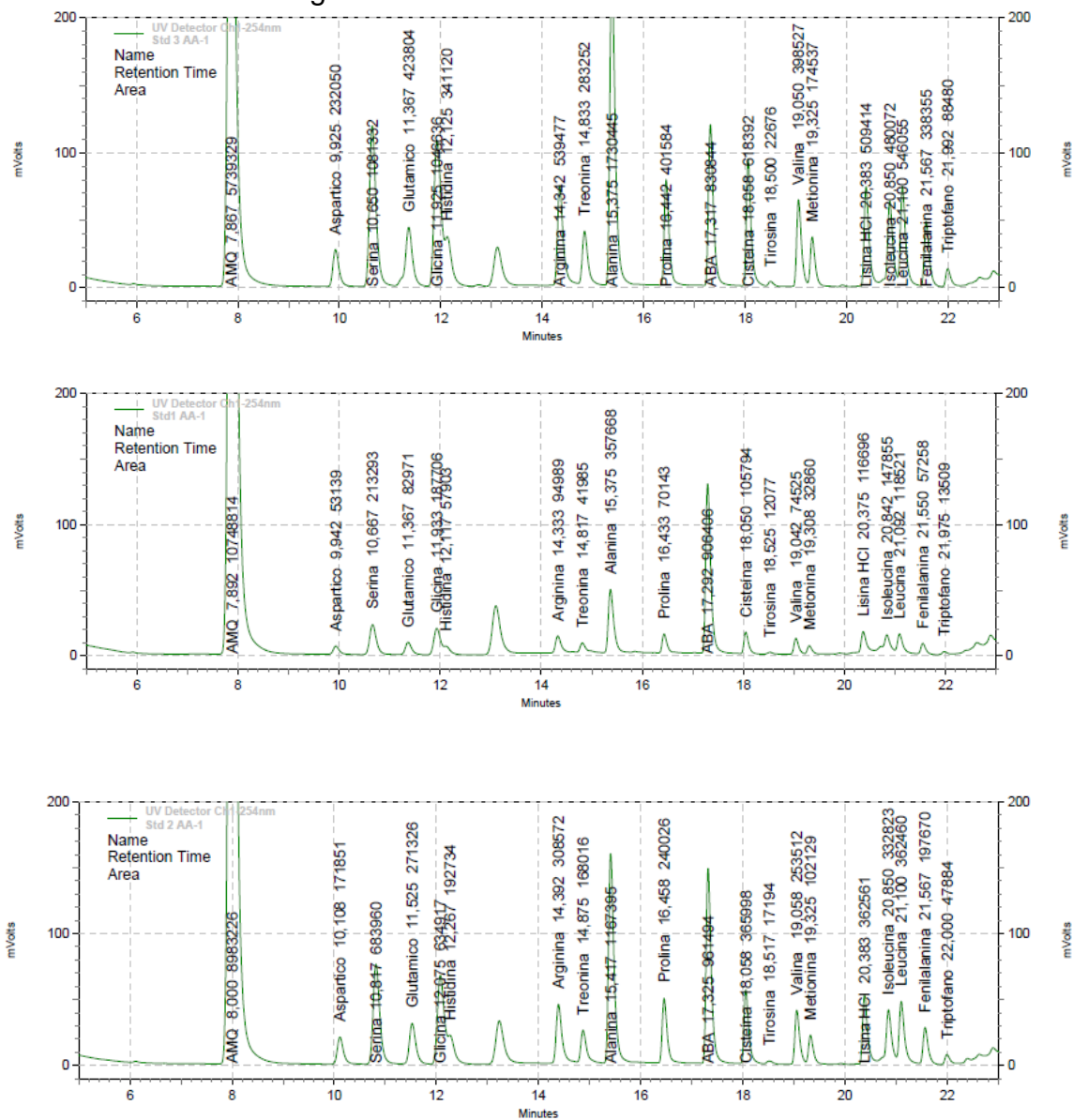
Anexo 27: Prueba Tukey para la composición de cenizas por zona.

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
2000	12	2,1600	
2500	12	2,1892	2,1892
3000	12		2,2008
	Sig.	0,117	0,689

Anexo 28: Prueba Tukey para la composición de cenizas por perlado.

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
0	9	1,7700			
10	9		2,0489		
30	9			2,3833	
50	9				2,5311
	Sig.	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 29: 3 cromatogramas de las curvas de calibración de los aminoácidos



Anexo 30: Prueba de Levene para la concentración de saponinas intrazonal.

Intrazona (msnm)	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2000	2,331	3	8	0,151
2500	0,213	3	8	0,884
3000	0,203	3	8	0,892

Anexo 31: Prueba de Levene para la concentración de saponinas intraperlado.

Intraperlado (%)	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0	0,578	2	6	0,589
10	1,410	2	6	0,315
30	0,913	2	6	0,451
50	0,373	2	6	0,703

Anexo 32: Prueba de Levene para la concentración de saponinas para el bloque de perlado.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
8,914	3	32	0,000

Anexo 33: Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal (2000 msnm con diferente porcentaje de perlado).

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	3	0,06333			
30	3		0,08467		
10	3			0,23467	
0	3				0,29533
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 34: Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal (2500 msnm con diferente porcentaje de perlado).

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	3	0,05867			
30	3		0,08800		
10	3			0,22300	
0	3				0,29933
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 35: Prueba Tukey para la concentración de saponinas intrazonal (3000 msnm con diferente porcentaje de perlado).

Perlado (%)	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
50	3	0,05167			
30	3		0,07933		
10	3			0,25300	
0	3				0,30100
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 36: Anova para la concentración de saponinas intraperlado.

Perlado (%)		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0	Inter-grupos	0,000	2	0,000		
	Intra-grupos	0,000	6	0,000	3,523	0,097
	Total	0,000	8			
10	Inter-grupos	0,001	2	0,001		
	Intra-grupos	0,000	6	0,000	72,647	0,000
	Total	0,001	8			
30	Inter-grupos	0,000	2	0,000		
	Intra-grupos	0,000	6	0,000	9,214	0,015
	Total	0,000	8			
50	Inter-grupos	0,000	2	0,000		
	Intra-grupos	0,000	6	0,000	23,872	0,001
	Total	0,000	8			

Anexo 37: Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado (10% en diferentes zonas).

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
2500	3	0,22300		
2000	3		0,23467	
3000	3			0,25300
Sig.		1,000	1,000	1,000

Anexo 38: Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado (30% en diferentes zonas).

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
3000	3	0,07933	
2000	3	0,08467	0,08467
2500	3		0,08800
Sig.		0,088	0,302

Anexo 39: Prueba Tukey para la concentración de saponinas en el intraperlado (50% en diferentes zonas).

Zona (msnm)	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
3000	3	0,05167	
2500	3		0,05867
2000	3		0,06333
Sig.		1,000	0,075

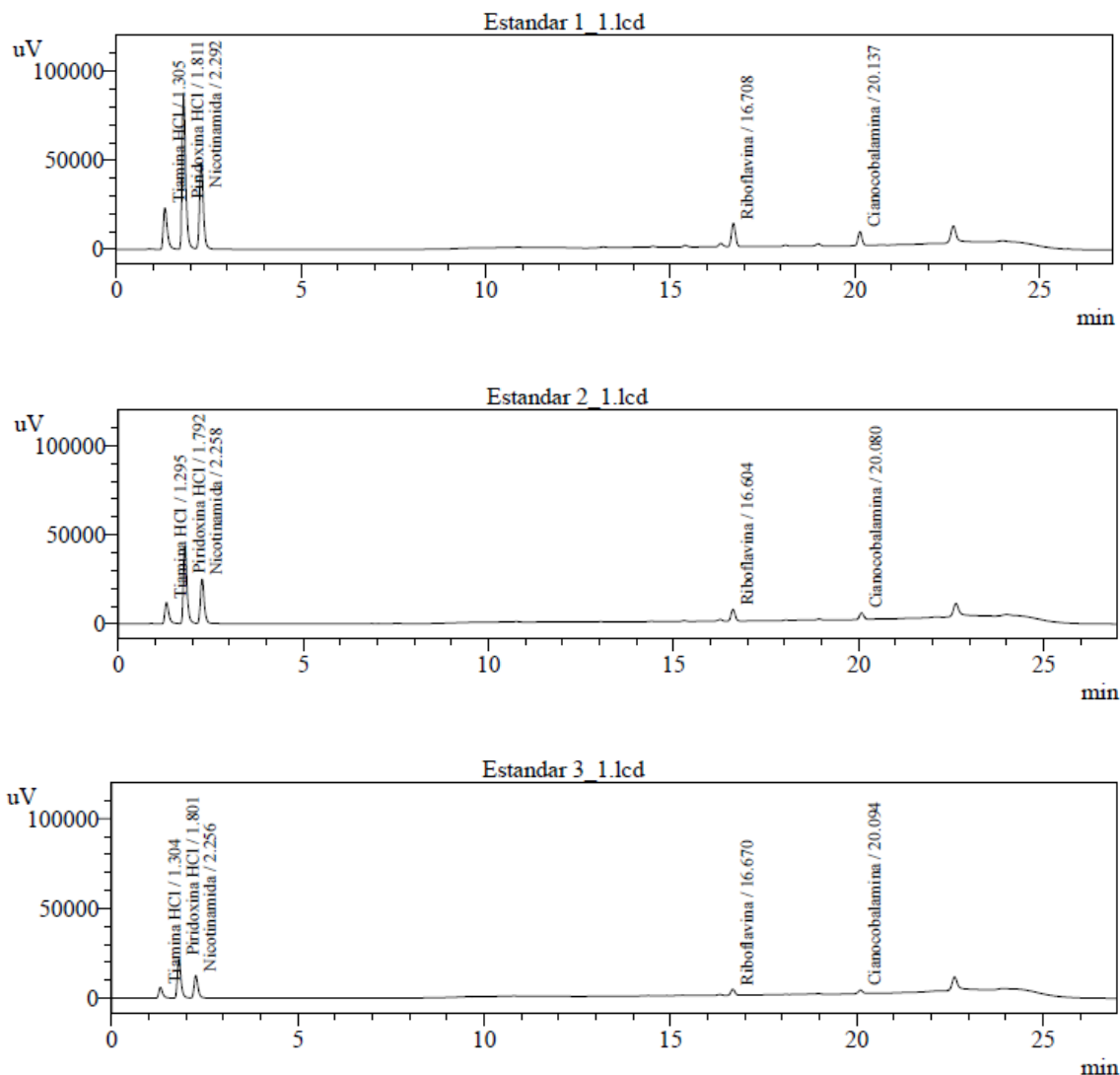
Anexo 40: Anova para la concentración de saponinas por bloque de perlado.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,369	3	0,123		
Intra-grupos	0,002	32	0,000	2061,071	0,000
Total	0,371	35			

Anexo 41: Prueba T3 de Dunnett para la concentración de saponinas por bloque de perlado.

Perlado (i)	Perlado (j)	Diferencias de medias (i-j)	Error típico	Sig.	Límite inferior	Límite superior
0%	10%	0,06167*	0,004599	0,000	0,04664	0,07670
	30%	0,21456*	0,001849	0,000	0,20903	0,22008
	50%	0,24067*	0,002131	0,000	0,23420	0,24714
10%	0%	-0,06167*	0,004599	0,000	-0,07670	-0,04664
	30%	0,15289*	0,004686	0,000	0,13780	0,16798
	50%	0,17900*	0,004804	0,000	0,16379	0,19421
30%	0%	-0,21456*	0,001849	0,000	-0,22008	-0,20903
	10%	-0,15289*	0,004686	0,000	-0,16798	-0,13780
	50%	0,02611*	0,002312	0,000	0,01921	0,03301
50%	0%	-0,24067*	0,002131	0,000	-0,24714	-0,23420
	10%	-0,17900*	0,004804	0,000	-0,19421	-0,16379
	30%	-0,02611*	0,002312	0,000	-0,03301	-0,01921

Anexo 42: 3 cromatogramas de las curvas de calibración de las vitaminas hidrosolubles.



Anexo 43: Prueba de Levene para los datos normales de vitaminas.

Vitamina	Zona				Perlado			
	Estadístico	gl1	gl2	Sig.	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
B1	0,122	2	9	0,886	3,359	3	8	0,076
B2	0,269	2	9	0,770	0,154	3	8	0,924
B3	0,007	2	9	0,993	0,339	3	8	0,798
B6	0,379	2	9	0,695	0,324	3	8	0,808
B12	0,103	2	9	0,903	1,620	3	8	0,260
A	0,019	2	9	0,981	2,997	2	6	0,125
D	0,078	2	9	0,925	0,595	3	8	0,636
E	0,041	2	9	0,960	0,801	3	8	0,527

Anexo 44: Anova del bloque de zona con el error, para vitaminas.

Vitamina	Zona					Error		
	A	Gl	B	F	Sig.	A	gl	B
B1	7,817E-5	2	3,908E-5	1,743	0,253	0,000	6	2,242E-5
B2	0,000	2	0,000	9,617	0,013	9,083E-5	6	1,514E-5
B3	0,000	2	7,558E-5	10,928	0,010	4,150E-5	6	6,917E-6
B6	1,400E-5	2	7,000E-6	0,133	0,878	0,000	6	5,267E-5
B12	0,000	2	0,000	7,025	0,027	9,417E-5	6	1,569E-5
D	0,000	2	0,000	5,722	0,041	0,000	6	3,569E-5
E	0,037	2	0,019	9,862	0,013	0,011	6	0,002

A: suma de cuadrados tipo III

B: Media cuadrática

Anexo 45: Anova del bloque de perlado con el total.

Vitamina	Perlado					Total	
	A	gl	B	F	Sig.	A	Gl
B1	0,008	3	0,003	121,520	0,000	0,008	11
B2	0,003	3	0,001	71,756	0,000	0,004	11
B3	0,011	3	0,004	538,807	0,000	0,011	11
B6	0,024	3	0,008	149,639	0,000	0,024	11
B12	0,004	3	0,001	87,283	0,000	0,004	11
D	0,044	3	0,015	412,514	0,000	0,045	11
E	9,461	3	3,154	1662,797	0,000	9,510	11

A: suma de cuadrados tipo III

B: Media cuadrática

Anexo 46: Prueba Tukey de la vitamina para la zona.

Zona (msnm)	N	B1		B3		B12		D		E	
		Subconjunto		Subconjunto		Subconjunto		Subconjunto		Subconjunto	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
3000	4	0,13475		0,131		0,11175		0,09775		1,148	
2500	4	0,143	0,143		0,1375	0,12	0,12	0,098		1,23775	1,23775
2000	4		0,1465		0,13925		0,1215	0,11025			1,28225
Sig.		0,054	0,459	1,000	0,637	0,058	0,857	0,057		0,061	0,379

Anexo 47: Prueba Duncan de la vitamina D para la variable perlado.

Altura (msnm)	N	Subconjunto	
		1	2
2000	4	0,9975	
3000	4	0,9800	
2500	4		0,11025
Sig.		0,955	1,000

Anexo 48: Prueba Tukey de la variable perlado para las vitaminas.

B1					B2						
Perlado (%)	N	Subconjunto				Perlado (%)	N	Subconjunto			
		1	2	3	4			1	2	3	4
50%	3	0,37100				50%	3	0,12167			
30%	3		0,38700			30%	3		0,13267		
10%	3		0,39700			10%	3			0,14533	
0%	3			0,44133		0%	3				0,16600
Sig.		1,000	0,141	1,000		Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

B12					D						
Perlado (%)	N	Subconjunto				Perlado (%)	N	Subconjunto			
		1	2	3	4			1	2	3	4
50%	3	0,09667				50%	3	0,02067			
30%	3	0,10767				30%	3		0,07467		
10%	3		0,12033			10%	3			0,12933	
0%	3			0,14633		0%	3				0,18333
Sig.		0,054	1,000	1,000		Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

E						
Perlado (%)	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	
50%	3		0,27400			
30%	3			0,47833		
10%	3				1,70400	
0%	3					2,43433
Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo 49: Anova de los factores: perlado y altura para la vitamina A de una sola vía.

Factor		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zona	Inter-grupos	0,001	2	0,000		
	Intra-grupos	0,271	9	0,030	0,016	0,984
	Total	0,272	11			
Perlado	Inter-grupos	0,152	2	0,076		
	Intra-grupos	0,002	6	0,000	281,920	0,000
	Total	0,154	8			

Anexo 50: Prueba Tukey de la variable perlado para la vitamina A.

Perlado (%)	N	Subconjunto		
		1	2	3
30%	3	0,08500		
10%	3		0,20300	
0%	3			0,40033
Sig.		1,000	1,000	1,000

Bibliografía

1. Arendt EK, Zannini E. 12 - Quinoa. In: Arendt EK, Zannini E, editors. *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*: Woodhead Publishing; 2013. p. 409-38.
2. Lutz M, Martínez A, Martínez EA. Daidzein and Genistein contents in seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from local ecotypes grown in arid Chile. *Industrial Crops and Products*. 2013;49:117-21.
3. Ahumada A, Ortega A, Chito D, Benítez R. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 2016;45(3):32.
4. Mota C, Santos M, Mauro R, Samman N, Matos AS, Torres D, et al. Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chemistry*. 2016;193:55-61.
5. Nowak V, Du J, Charrondièrè UR. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chemistry*. 2016;193(Supplement C):47-54.
6. Kuljanabagavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, Wink M. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. *Phytochemistry*. 2008;69(9):1919-26.
7. Mostafa A, Sudisha J, El-Sayed M, Ito S-i, Ikeda T, Yamauchi N, et al. Aginoside saponin, a potent antifungal compound, and secondary metabolite analyses from *Allium nigrum* L. *Phytochemistry Letters*. 2013;6(2):274-80.
8. Gómez-Caravaca AM, Iafelice G, Verardo V, Marconi E, Caboni MF. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Food Chemistry*. 2014;157:174-8.
9. Bai H, Li W, Zhao H, Anzai Y, Li H, Guo H, et al. Isolation and structural elucidation of novel cholestane glycosides and spirostane saponins from *Polygonatum odoratum*. *Steroids*. 2014;80:7-14.
10. Cheok CY, Salman HAK, Sulaiman R. Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*. 2014;59:16-40.
11. Pappier U, Fernández Pinto V, Larumbe G, Vaamonde G. Effect of processing for saponin removal on fungal contamination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). *International Journal of Food Microbiology*. 2008;125(2):153-7.
12. Sun A, Xu X, Lin J, Cui X, Xu R. Neuroprotection by saponins. *Phytotherapy Research*. 2015;29(2):187-200.
13. Ortega-Bonilla RA, Chito-Trujillo DM. An assessment of the nutritional status of a school-aged population from Argelia, Colombia. *Revista de Salud Publica*. 2014;16(4):547-59.
14. Cooper R. Re-discovering ancient wheat varieties as functional foods. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2015;5(3):138-43.
15. Stikic R, Glamoclija D, Demin M, Vucelic-Radovic B, Jovanovic Z, Milojkovic-Opsenica D, et al. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal Science*. 2012;55(2):132-8.
16. Zurita-Silva A, Fuentes F, Zamora P, Jacobsen S-E, Schwember A. Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): potential and perspectives. *Molecular Breeding*. 2014;34(1):13-30.
17. Abugoch James LE. Chapter 1 Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*. Volume 58: Academic Press; 2009. p. 1-31.

18. Abderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzalez MC, Condezo-Hoyos L. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chemistry*. 2015;183:83-90.
19. Tang Y, Li X, Zhang B, Chen PX, Liu R, Tsao R. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry*. 2015;166:380-8.
20. Dini I, Tenore GC, Dini A. Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *LWT - Food Science and Technology*. 2010;43(3):447-51.
21. Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. 7 - Pseudocereals. In: Arendt EK, Bello FD, editors. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. San Diego: Academic Press; 2008. p. 149-VI.
22. Alvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*. 2010;119(2):770-8.
23. Joshi RC, San Martín R, Saez-Navarrete C, Alarcon J, Sainz J, Antolin MM, et al. Efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins against golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in the Philippines under laboratory conditions. *Crop Protection*. 2008;27(3-5):553-7.
24. Miranda M, Vega-Gálvez A, López J, Parada G, Sanders M, Aranda M, et al. Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Industrial Crops and Products*. 2010;32(3):258-63.
25. Repo-Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen SE. Nutritional Value and Use of the Andean Crops Quinoa (*Chenopodium quinoa*) and Kan'iwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*. 2003;19:179-89.
26. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*. 2010;21(2):106-13.
27. Nascimento AC, Mota C, Coelho I, Gueifão S, Santos M, Matos AS, et al. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chemistry*. 2014;148:420-6.
28. Ketnawa S, Ogawa Y. Evaluation of protein digestibility of fermented soybeans and changes in biochemical characteristics of digested fractions. *Journal of Functional Foods*. 2019;52:640-7.
29. Vilcacundo R, Miralles B, Carrillo W, Hernández-Ledesma B. In vitro chemopreventive properties of peptides released from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein under simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*. 2018;105:403-11.
30. Berti C, Riso P, Monti L, Porrini M. In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. *European Journal of Nutrition*. 2004;43(4):198-204.
31. Araujo-Farro PC, Podadera G, Sobral PJA, Menegalli FC. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. *Carbohydrate Polymers*. 2010;81(4):839-48.
32. Elgeti D, Nordlohne SD, Föste M, Besl M, Linden MH, Heinz V, et al. Volume and texture improvement of gluten-free bread using quinoa white flour. *Journal of Cereal Science*. 2014;59(1):41-7.

33. Miranda M, Vega-Gálvez A, Martínez EA, López J, Marín R, Aranda M, et al. Influence of contrasting environments on seed composition of two quinoa genotypes: nutritional and functional properties. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2013;73(2):108-16.
34. Gómez-Caravaca AM, Verardo V, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Caboni MF. Chapter 3 - Phenolic Compounds and Saponins in Plants Grown Under Different Irrigation Regimes. In: Watson RR, editor. *Polyphenols in Plants*. San Diego: Academic Press; 2014. p. 37-52.
35. Augustin JM, Kuzina V, Andersen SB, Bak S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*. 2011;72(6):435-57.
36. Wina E, Muetzel S, Becker K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production--a review. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(21):8093-105.
37. Kuljanabthagavad T, Wink M. Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. *Phytochemistry Reviews*. 2009;8(2):473-90.
38. Fiallos-Jurado J, Pollier J, Moses T, Arendt P, Barriga-Medina N, Morillo E, et al. Saponin determination, expression analysis and functional characterization of saponin biosynthetic genes in *Chenopodium quinoa* leaves. *Plant Science*. 2016;250:188-97.
39. Zhu N, Sheng S, Sang S, Jhoo J-W, Bai N, Karwe MV, et al. Triterpene Saponins from Debittered Quinoa (*Chenopodium quinoa*) Seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002;50(4):865-7.
40. Woldemichael GM, Wink M. Identification and Biological Activities of Triterpenoid Saponins from *Chenopodium quinoa*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001;49(5):2327-32.
41. Gómez-Caravaca AM, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Caboni MF. Simultaneous Determination of Phenolic Compounds and Saponins in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a Liquid Chromatography–Diode Array Detection–Electrospray Ionization–Time-of-Flight Mass Spectrometry Methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2011;59(20):10815-25.
42. Lozano M, Ticona E, Carrasco C, Flores Y, Almanza GR. CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS EN RESIDUOS DE QUINUA REAL *CHENOPODIUM QUINOA* WILLD. *Revista Boliviana de Química*. 2012;29:131-8.
43. ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, ICH Harmonized Tripartite Guidelines. 2005.
44. Yao Y, Yang X, Shi Z, Ren G. Anti-Inflammatory Activity of Saponins from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages Cells. *Journal of Food Science*. 2014;79(5):H1018-H23.
45. Gülçin İ, Mshvildadze V, Gepdiremen A, Elias R. The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -d-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*. 2006;20(2):130-4.
46. San Martín R, Ndjoko K, Hostettmann K. Novel molluscicide against *Pomacea canaliculata* based on quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins. *Crop Protection*. 2008;27(3–5):310-9.
47. Miller JN, Miller JC. *Estadística y quimiometría para química analítica*. España: Prentice Hall; 2002.
48. (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis. 950.43: determination of moisture. 19th ed. Gaithersburg (USA): 2012.
49. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis 920.175: Ash of flour. 19th ed. Gaithersburg (USA): 2012.

50. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis 991.36: fat in feeds. 19th ed. Gaithersburg (USA): 2012.
51. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis 968.06: determination of the nitrogen content. 19th ed. Gaithersburg (USA): 2012.
52. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Official methods of analysis 962.09.: crude fiber analysis. 19th ed. Gaithersburg (USA): 2012.
53. White JA, Hart RJ, Fry JC. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *The Journal of automatic chemistry*. 1986;8(4):170-7.
54. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Alimento para animales: determinación de la digestibilidad con pepsina de la proteína de origen animal. Bogotá: ICONTEC; 2003. (NTC 719).
55. Miller R, Fainerman VB, Krägel J, Loglio G. Surface rheology of adsorbed surfactants and proteins. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 1997;2(6):578-83.
56. Avula B, Wang Y-H, Rumalla CS, Ali Z, Smillie TJ, Khan IA. Analytical methods for determination of magnoflorine and saponins from roots of *Caulophyllum thalictroides* (L.) Michx. Using UPLC, HPLC and HPTLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011;56(5):895-903.
57. Padron Pereira CA, Oropeza González R, Montes Hernández A. Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas 2014. 166-218 p.
58. Curti RN, de la Vega AJ, Andrade AJ, Bramardi SJ, Bertero HD. Multi-environmental evaluation for grain yield and its physiological determinants of quinoa genotypes across Northwest Argentina. *Field Crops Research*. 2014;166(Supplement C):46-57.
59. Dini I, Tenore GC, Dini A. Saponins in *Ipomoea batatas* tubers: Isolation, characterization, quantification and antioxidant properties. *Food Chemistry*. 2009;113(2):411-9.