



UNIVERSIDAD DE CUENCA



**UNIVERSIDAD DE CUENCA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**TEMA:**

**PREPARACIÓN DE UN SUPLEMENTO PROTEICO ELABORADO A PARTIR  
DE *Lupinus mutabilis* "CHOCHO" Y SU VALORACIÓN BROMATOLÓGICA**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE BIOQUÍMICO  
FAMACÉUTICO**

**AUTORES:**

Andrés Rafael Farinango Matute  
Juan Diego Quizhpi Mogrovejo

**DIRECTORA:**

Dra. Diana Astudillo Neira, Mst.

**ASESORAS:**

Ph.D. Johana Ortiz  
Dra. Jessica León, Mst.

Cuenca- Ecuador

2015



## RESUMEN

La finalidad del presente trabajo fue desarrollar un suplemento proteico utilizando una fuente vegetal muy poco consumida, el chocho *Lupinus mutabilis*, propia de la región andina, para complementar el consumo de nutrientes como proteína, calcio y hierro principalmente. En la preparación del producto se partió del grano de chocho, el cual fue procesado para eliminar los alcaloides y la fibra contenida en la corteza, con el posterior secado y molido para obtener el polvo base.

A partir del polvo obtenido, se prepararon 4 fórmulas de suplemento las cuales tenían en común la misma cantidad de edulcorantes y conservantes, variando únicamente el sabor y a cada una se le asignó un código: Batido 579 sin sabor, Batido 205 sabor Banana, Batido 318 sabor Vainilla y Batido 469 sabor Chocolate, con la finalidad de realizar el análisis sensorial. Se obtuvo buena aceptabilidad para el batido 205, 318 y 469, mientras que el Batido 579 no tuvo aceptabilidad.

De las 3 formulaciones con sabor, se escogió el Batido 205 sabor a banano, que fue la de mayor aceptabilidad del grupo y se realizó los análisis microbiológicos y se determinó el valor nutritivo.

Los análisis realizados al suplemento proteico elaborado a partir de *Lupinus mutabilis* nos dieron los siguientes resultados en el valor nutritivo del producto:

NUTRIENTE	PORCENTAJE %
PROTEINAS	33.6
GRASAS	28.3
CARBOHIDRATOS	28.2
CENIZAS	1.7
HUMEDAD	8.2
HIERRO	0.00347
CALCIO	0.00783

El análisis microbiológico determinó que dicho suplemento es apto para el consumo humano.

**PALABRAS CLAVE:** Suplemento Proteico, chocho.

## SUMMARY

The purpose of the present work was to develop a protein supplement using a vegetable source as *Lupinus mutabilis*, which is characteristic of the Andean region the consumption of this, is very little, with the purpose of supplementing the consumption of nutritious as protein, calcium and iron mainly. For the development of the product was used the dry bean of Chocho, which was processed eliminating the alkaloids, the fiber contained in the cuticle, and after the drying and milled a powder was obtained.

Starting from the obtained powder, they were elaborated 4 formulas for the supplement which had the same quantity in common of edulcorating and conserving only varying the flavor and each one was put a code: Batido 579 without flavor, Batido 205 with flavor banana, Batido 318 with flavor Vanilla, Batido 469 with flavor Chocolate, everything with the purpose of carrying out the sensorial analysis. Good acceptability was obtained as results for the batido 205, 318 y 469, batido 579 did not get acceptability

Of the 3 formulations was took the corresponding to the Batido 205 Flavor banana, because it had the biggest acceptability and with which we carry out the microbiological analyses, nutritious value.

The results of the analyses carried out to the protein supplement elaborated starting of *Lupinus mutabilis*, were the following:

NUTRITIOUS	PERCENTAGE %
PROTEINS	33.6
FAT	28.3
CARBOHYDRATES	28.2
ASHES	1.7
HUMIDITY	8.2
IRON	0.00347
CALCIUM	0.00783

Microbiological analysis determined that the supplement is suitable for human consumption.

KEY WORDS: Protein supplement, chocho.

**CONTENIDO**

RESUMEN .....	2
DEDICATORIAS.....	11
AGRADECIMIENTOS .....	12
INTRODUCCION .....	13
1. MARCO TEÓRICO.....	15
1.1 Chocho.....	15
1.1.1 Generalidades .....	15
1.1.2 Descripción botánica: .....	15
1.1.3 Composición química y valor nutricional .....	16
1.1.4 Proteína del chocho.....	16
1.1.5 Alcaloides del chocho .....	17
1.2 Métodos de eliminación de los alcaloides .....	18
1.2.1 Extracción de alcaloides con solventes no miscibles en agua .....	18
1.2.2 Extracción de alcaloides con solventes miscibles en agua .....	18
1.2.3 Extracción de alcaloides con agua .....	19
1.3 Suplemento dietético.....	20
1.3.1 Definición.....	20
1.3.2 Tipos de suplementos.....	21
1.4 Análisis sensorial de los alimentos .....	21
1.5 Conservación de alimentos.....	21
1.5.1 Concepto de alimento.....	21
1.5.2 Vida útil de los alimentos .....	22
1.5.3 Métodos de conservación de alimentos .....	22
1.5.4 Secado de granos .....	23
1.5.5 Alteración de los alimentos.....	24
1.5.6 Uso de aditivos químicos en alimentos .....	24
2 METODOLOGÍA.....	26
2.1 Tipo de estudio.....	26
2.2 Universo de estudio .....	26



2.3	Tamaño de muestra .....	26
2.4	Criterios de inclusión.....	26
2.5	Criterios de exclusión.....	26
2.6	Materiales, Equipos y Reactivos .....	27
2.6.1	Materia Vegetal.....	27
2.6.2	Equipos .....	27
2.6.3	Materiales.....	27
2.6.4	Reactivos.....	28
2.7	Procesamiento de la materia prima (ANEXO 2).....	28
2.7.1	Recepción de la materia prima.....	28
2.7.2	Lavado del grano.....	28
2.7.3	Pesado del grano .....	28
2.8	Eliminación de los alcaloides (ANEXO 3) .....	28
2.8.1	Método de concentración de la proteína .....	28
2.9	Procesamiento del chocho desamargado (ANEXO 4) .....	29
2.9.1	Descascarado del chocho .....	29
2.9.2	Secado del chocho .....	29
2.9.3	Molido del chocho.....	29
2.10	Diseño de formulación del suplemento a partir de <i>Lupinus mutabilis</i> .	30
2.11	Valoración bromatológica del grano de chocho y del suplemento obtenido .....	31
2.11.1	Determinación de la humedad.....	31
2.11.2	Determinación del contenido en materia grasa método de Soxhlet	
	32	
2.11.3	Determinación de proteínas por método de Kjeldahl.....	33
2.11.4	Determinación de cenizas totales método de calcinación .....	35
2.11.5	Determinación de carbohidratos por método de Weende (sistema de análisis proximal de Weende).....	35
2.11.6	Determinación de minerales por absorción y emisión atómica....	36
2.11.7	Determinación cualitativa de los alcaloides .....	37
2.11.8	Ánálisis microbiológico (Placas Petrifilm) .....	38
2.11.9	Requisitos microbiológicos .....	38



2.12 Análisis sensorial del suplemento proteico .....	39
2.12.1 Fundamento .....	39
2.12.2 Protocolo para la degustación de los batidos del suplemento proteico elaborado a partir de <i>Lupinus mutabilis</i> “chocho” .....	39
2.12.3 Procedimiento para la degustación del suplemento (ANEXO 12) ..	40
2.13 Etiquetado y envasado de suplementos .....	41
2.14 Control de calidad interno .....	42
2.14.1 Coeficiente de variación .....	42
3 Resultados y discusión.....	43
3.1 Contenido de Nutrientes en el suplemento elaborado a partir de <i>Lupinus mutabilis</i> .....	43
3.1.1 Contenido de proteínas .....	43
3.1.2 Contenido de grasas .....	44
3.1.3 Contenido de humedad .....	44
3.1.4 Contenido de cenizas .....	44
3.1.5 Contenido de minerales.....	44
3.1.6 Contenido de carbohidratos por método de Weende .....	45
3.2 Análisis sensorial .....	45
3.2.1 Clasificación por atributos .....	45
3.2.2 Calificación global de los batidos.....	49
3.3 Control de calidad interno de los análisis.....	50
3.4 Análisis microbiológico .....	51
3.5 Aporte calórico del suplemento .....	51
3.6 Etiquetado. Cuadro de información nutricional .....	52
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	54
Conclusiones .....	54
Recomendaciones .....	55



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CLAUSULA DE DERECHO DE AUTOR



Universidad de Cuenca  
Cláusula de derechos de autor

Andrés Rafael Farinango Matute, autor de la tesis "PREPARACIÓN DE UN SUPLEMENTO PROTEICO ELABORADO A PARTIR DE *Lupinus mutabilis* "CHOCHO" Y SU VALORIZACIÓN BROMATOLÓGICA" reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 25 de febrero del 2015

Andrés Rafael Farinango Matute

C.I: 010643560-5



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Universidad de Cuenca  
Cláusula de derechos de autor

Juan Diego Quizhpi Mogrovejo, autor de la tesis "PREPARACIÓN DE UN SUPLEMENTO PROTEICO ELABORADO A PARTIR DE *Lupinus mutabilis* "CHOCHO", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 25 de febrero del 2015

Juan Diego Quizhpi Mogrovejo

C.I: 0105064422



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca  
Cláusula de propiedad intelectual

Andrés Rafael Farinango Matute, autor de la tesis “PREPARACIÓN DE UN SUPLEMENTO PROTEICO ELABORADO A PARTIR DE *Lupinus mutabilis* “CHOCHO” Y SU VALORACIÓN BROMATOLÓGICA”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de febrero del 2015

A handwritten signature in blue ink.

Andrés Rafael Farinango Matute

C.I: 010643560-5



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Universidad de Cuenca  
Cláusula de propiedad intelectual

Juan Diego Quizhpi Mogrovejo autor de la tesis "PREPARACIÓN DE UN SUPLEMENTO PROTEICO ELABORADO A PARTIR DE *Lupinus mutabilis* "CHOCHO" Y SU VALORACIÓN BROMATOLÓGICA", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de febrero del 2015

Juan Diego Quizhpi Mogrovejo

C.I: 0105064422



## DEDICATORIAS

### **ANDRES**

A Dios porque en todas las cosas que hago siempre trato de hacer su voluntad, a mis padres Luis, Petrona y a mis hermanos José y Claudio por medio de quienes he recibido siempre las bendiciones de mi Dios.

### **JUAN DIEGO**

A Dios, mis padres Federico y Narcisa, mis hermanos Paúl y Andrés, quienes estuvieron conmigo desde el primer día de vida hasta hoy apoyándome y dándome fuerzas para seguir adelante.



## AGRADECIMIENTOS

Nuestros más sinceros agradecimientos a nuestros profesores y a la Universidad de Cuenca que ha permitido nuestra formación profesional.

A la directora de tesis, la Dra. Diana Astudillo, quien con sus consejos, enseñanzas, correcciones ha aportado de manera importante para su realización, siempre con buena disposición.

Agradecemos a la Ph.D Johana Ortiz, Dra. Mariana Saa, Dra. Jessica León, Ing. Juan José Vásquez, Ing. Jorge Delgado por su valioso tiempo, quienes nos han ayudado en diversos aspectos en el desarrollo de la tesis.

A la Doctora Silvana Donoso, Decana de la Facultad de Ciencias Químicas, por permitirnos realizar esta tesis en los laboratorios de Microbiología de Alimentos, y Bromatología, así como el uso de varios de los equipos disponibles en el laboratorio Tecnológico.

Los Autores



## INTRODUCCION

El chocho (*Lupinus mutabilis*) es una leguminosa utilizada como alimento. Se caracteriza por contener altos porcentaje de proteína y grasa, tener sabor amargo debido al contenido de alcaloides y ser adaptable a diversidades climáticas con mínimas exigencias del suelo.

Sin embargo el uso del chocho como alimento es escaso, pues se desconoce las cualidades nutricionales que ofrece dicha leguminosa. En la actualidad existen varios problemas de desnutrición y malnutrición, deficiencia proteica en los alimentos, escasez y alto costo de fuentes proteicas de origen animal. En nuestro medio esta problemática demanda producir fuentes proteicas de origen vegetal que sean económicas y accesibles, por lo tanto la alternativa que se plantea es la elaboración de un suplemento aprovechando los beneficios nutricionales que ofrece esta leguminosa.

Uno de los factores más importantes para el desarrollo de la vida es una buena nutrición, la cual depende en gran parte de los hábitos alimenticios, que deben suprir todas las necesidades tanto en macro como en micro nutrientes. Dentro de los macro nutrientes están las proteínas, las cuales desempeñan un papel fundamental para la vida y son las biomoléculas más versátiles y diversas, son imprescindibles para el crecimiento del organismo y realizan una enorme cantidad de funciones, como son de tipo estructural, inmunológica y enzimática entre las más importantes, sin embargo el consumo de las mismas se ve limitado, por el mal hábito de alimentación, al igual con los micronutrientes.

El chocho (*Lupinus mutabilis*) fija altas cantidades de nitrógeno atmosférico y sus semillas presentan altos contenidos de proteína (40-50%). Sin embargo, el sabor amargo de las semillas debido a sus alcaloides ha impedido que el grano sea utilizado directamente en la alimentación humana<sup>1</sup>.

Se conoce que el contenido proteico del chocho es uno de los más altos de origen vegetal, al igual que su contenido en micronutrientes en especial de calcio y de hierro. Aprovechando estas propiedades nutricionales se plantea equilibrar las deficiencias en la alimentación con la elaboración de un



UNIVERSIDAD DE CUENCA

suplemento en polvo procesado a partir de las semillas del *Lupinus mutabilis*. A partir de este grano se pueden obtener harinas, concentrados y aislados cuyo contenido de proteína puede variar del 40 - 90 %<sup>2</sup>.

En la Constitución de la República del Ecuador aprobada en el año 2008 manifiesta en su Art. 13 que “Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria.” Por tanto es necesario aprovechar uno de los recursos endémicos de nuestra zona geográfica andina como lo es el chocho.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue la preparación y la obtención de un producto que aporte una cantidad importante de proteínas a la alimentación, el cual deberá ser de fácil administración, luego de los estudios realizados y el establecimiento de los procesos para concentrar la proteína de *Lupinus mutabilis* se logró obtener una fórmula de gran aceptación.



## CAPITULO I

### 1. Marco teórico.

#### 1.1 Chocho

##### 1.1.1 Generalidades

El chocho es una leguminosa originaria de los Andes de Bolivia, Ecuador y del Perú, tiene relevancia en la gastronomía de estos países desde la época preincaica. Su alto contenido de proteínas, mayor que el de la soya, lo hace una planta de interés para la nutrición humana y animal.

##### 1.1.2 Descripción botánica:

Las hojas tienen forma alargada generalmente compuesta por 8 folíolos que varían entre ovalados a lanceolados. Referente a las semillas de chocho, están incluidas en un número variable en una vaina de 5 a 12cm y varían de forma (redondeada, ovalada, a casi cuadrangular). La variación del tamaño depende tanto de las condiciones de crecimiento como del ecotipo o variedad. La semilla está recubierta por un tegumento endurecido que puede constituir hasta el 10% del peso total.<sup>3</sup>

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del *Lupinus mutabilis* citado por Rivadeneira, J. (1999):

División	Espermatozita
Sub – división	Angiosperma
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Arquiclamideas
Orden	Rosales
Familia	Leguminosas
Sub - familia	Papilionoideas
Tribu	Genisteas



<b>Género</b>	Lupinus
<b>Especie</b>	mutabilis
<b>Nombre científico</b>	<i>Lupinus mutabilis</i>
<b>Nombres comunes</b>	Chocho, tahuri, tarwi.

Fuente: (Caicedo V. & Peralta, 2001)<sup>4</sup>

### 1.1.3 Composición química y valor nutricional

El grano del chocho es rico en proteína y grasas, razón por la cual debería ser utilizado en la alimentación humana con mayor frecuencia; las proteínas y aceites constituyen más de la mitad de su peso; estudios realizados en más de 300 diferentes genotipos muestran que la proteína varía del 41- 51% y la grasa de 14-24%. Existe una correlación positiva entre proteínas y alcaloides, mientras que es negativa entre proteína y grasa, significa que entre más proteína tenga, mayor será la cantidad de alcaloide, esto no ocurre con la grasa.<sup>5</sup>

**Tabla 2.** Porcentaje de nutrientes en semilla cruda.

Componentes	Porcentaje (%P/P)
Proteína	35-48
Grasa	15-24
Carbohidratos	28
Fibra	6-20
Ceniza	3-6
Humedad	7-12

Fuente: (Proyecto Norma Andina, 2011)<sup>6</sup>

### 1.1.4 Proteína del chocho

La proteína del chocho contiene adecuadas cantidades de aminoácidos esenciales como lisina y leucina pero es baja en aminoácidos azufrados, sobre todo en metionina; en contraste con las proteínas contenidas en los cereales, como maíz, trigo, arroz, siendo complementarias de éstos.

**Tabla 3. Aminoácidos presentes en el chocho**

AMINOACIDOS	mg/g total de Nitrógeno
Lisina	<b>331</b>
Leucina	<b>449</b>
Isoleucina	<b>274</b>
Metionina	<b>47</b>
Cistina	<b>87</b>
Fenilalanina	<b>231</b>
Tirosina	<b>221</b>
Treonina	<b>228</b>
Triptofano	<b>110</b>
Valina	<b>252</b>
Arginina	<b>594</b>

(Villacres, Peralta, & Álvarez, Programa Nacional de leguminosas y granos Andinos, 2003)<sup>7</sup>

La cantidad de los aminoácidos azufrados es una característica de esta leguminosa. Estudios realizados demuestran que al suplir 2% de metionina al chocho se incrementa la relación de eficiencia de proteína (PER), la utilización proteica neta (UPN) y el valor biológico (VB) en ratas y niños.<sup>8</sup>

#### 1.1.5 Alcaloides del chocho

El grano del chocho contiene algunas sustancias que no son nutritivas, por el contrario pueden llegar a ser tóxicas para el ser humano, como es el caso de los alcaloides, que le confieren al grano un sabor amargo.

Los alcaloides del chocho son del tipo quinolizidínico y de carácter básico, poseen un heterociclo nitrogenado bicíclico, generalmente estos pueden ser extraídos con varios solventes, en la siguiente tabla se ve la efectividad de varios de estos:



Solventes	Concentración alcaloides (%)	Rendimiento (%)
<b>Agua (maceración)</b>	120.75	15
<b>Alcohol isopropílico</b>	2.78	3.1
<b>Hexano</b>	0.4	0.8
<b>Agua (cocción)</b>	7.4	8.4

Los alcaloides más importantes identificados en el grano del chocho son la luponina y la esparteína, constituyendo un 2.5% y un 0.32% del grano crudo, respectivamente. Existen también en menor cantidad compuestos como la 3-β-hidroxilupanina, 13-hidroxilupanina, y tetrahidrorombifolina.<sup>9</sup>

## 1.2 Métodos de eliminación de los alcaloides

Existen varios procesos de eliminación de los alcaloides del chocho, entre los cuales destacan:

- Extracción de alcaloides con solventes no miscibles en agua.
- Extracción de alcaloides con solventes miscibles en agua.
- Extracción de alcaloides con agua.

### 1.2.1 Extracción de alcaloides con solventes no miscibles en agua

En este proceso se utiliza solventes como el tolueno, diclorometano y el cloroformo o una mezcla de estos. La droga vegetal debe ser sometida a un tratamiento previo con una solución alcalina para que los alcaloides se liberen de su sal, ya que los solventes utilizados solo son capaces de extraer a los alcaloides en su forma libre y no como sales, como generalmente se encuentran.

### 1.2.2 Extracción de alcaloides con solventes miscibles en agua

Este proceso se realiza mediante percolación, utilizando como solvente alcohol (metanol, etanol), ya que estos solventes tienen gran polaridad permiten extraer al alcaloide tanto en su forma libre como en su sal, además esta extracción de otros compuestos como pigmentos, taninos y otras impurezas.



Luego de la extracción alcohólica se realiza un tratamiento ácido para asegurar la fijación de los alcaloides únicamente y luego se realiza la extracción de los mismos con cloroformo generalmente.<sup>10</sup>

### **1.2.3 Extracción de alcaloides con agua**

Este proceso se basa en la polaridad del agua que facilita la extracción de los alcaloides y la solubilidad de estos cuando se encuentran en forma de sal, a este proceso se le conoce como desamargado.

#### **1.2.3.1 Desamargado del chocho**

El desamargado del chocho es un proceso que consta de tres etapas que son: hidratación, cocción y lavado.

#### **1.2.3.2 Hidratación**

Se utiliza agua potable y esta debe cubrir en su totalidad a los granos de chocho, la temperatura apropiada para la hidratación es de 40°C y el tiempo apropiado para esta es de 14-16 horas.

#### **1.2.3.3 Cocción**

Luego de la hidratación se coloca el grano de chocho en ollas y se procede a la cocción durante 40 minutos, al final de este periodo la dureza del grano debe encontrarse entre 6.6-6.8 mm de penetración, medida con un durómetro.

#### **1.2.3.4 Lavado**

Para el lavado se requiere agua a 40°C, se realiza con agua clorada para evitar la presencia de microorganismos, además se necesita que exista agitación para ayudar a la eliminación de los alcaloides en un tiempo de 72 horas. En resumen para obtener un grano apto para el consumo se deben aplicar los procesos de calentamiento, clorinación, agitación y controlarlos adecuadamente.<sup>11</sup>

## 1.3 Suplemento dietético

### 1.3.1 Definición

Los suplementos dietéticos son un producto alimentario, añadido a la dieta total, que contiene al menos uno de los siguientes ingredientes: una vitamina, un mineral, un aminoácido, un metabolito, o una combinación de cualquiera de estos ingredientes.<sup>12</sup>

Está preparado para ser ingerido en forma de pastilla, cápsula, polvo, cápsula blanda. No está presentado para ser utilizado como un alimento convencional o como elemento único de la comida o de la dieta alimenticia. Esta etiquetado como suplemento alimenticio.<sup>13</sup>

Está permitido que contengan los siguientes ingredientes:

- ✓ Carbohidratos
- ✓ Proteínas
- ✓ Aminoácidos
- ✓ Ácidos grasos
- ✓ Metabolitos
- ✓ Plantas
- ✓ Algas
- ✓ Aditivos

Los suplementos alimenticios no deben contener:

- ✓ Sustancias con acción farmacológica reconocida
- ✓ Procaína, efedrina, yohimbina, germanio
- ✓ Hormonas animales o humanas
- ✓ Sustancias farmacológicas reconocidas o que representen un riesgo para la salud.<sup>14</sup>

### 1.3.2 Tipos de suplementos.

Los suplementos pueden estar compuestos por:

- Fórmulas poliméricas completas. (normo/hipercalóricas o hiperproteicas).
- Suplementos vitamínico-minerales.
- Fibra.
- Módulos o fórmulas modulares.
- Fórmulas especiales: intolerancia a la glucosa, nefropatías; Fibrosis Quística; metabolopatías, etc.

Las fórmulas modulares nunca constituyen una dieta completa y están a su vez constituidos por nutrientes aislados o simples como proteínas, carbohidratos o grasas para suplementar las raciones alimenticias inadecuadas o como parte de un sistema enteral modular, en la que diversos módulos se combinan entre sí para alcanzar los requerimientos de nutrientes del paciente.<sup>15</sup>

### 1.4 Análisis sensorial de los alimentos

Es la función en donde el ser humano rechaza o acepta los alimentos, esto se da de acuerdo con la sensación al consumirlos. Este análisis sensorial nos da como resultado una visión integradora sobre la calidad organoléptica de un producto, lo cual se define como calidad sensorial. El éxito que tenga o no un alimento dependerá de la respuesta de los sentidos del consumidor.<sup>16</sup>

### 1.5 Conservación de alimentos

#### 1.5.1 Concepto de alimento

Alimento es un producto destinado a satisfacer las necesidades nutricionales y el apetito, por medio de sus componentes químicos y sus características organolépticas, proporcionando así energía al organismo que lo consume.

### 1.5.2 Vida útil de los alimentos

Se define como el período que tarda un alimento en mantener sus niveles de calidad, lo que permite su consumo. Los criterios para su valoración son la inocuidad del producto y la valoración de las propiedades sensoriales.

La vida útil de un alimento es muy variable, depende de una serie de factores que son: presentación, almacenado, transporte, distribución, venta y manipulación.<sup>17</sup>

### 1.5.3 Métodos de conservación de alimentos

Procesos que permiten prolongar la vida útil del alimento conservando sus características nutritivas, sensoriales e inocuidad.

Existen varios procesos de conservación de alimentos entre los que tenemos:

#### 1.5.3.1 Mediante calor:

Pasteurización: se realiza una pasteurización a temperatura baja y tiempo prolongado, 63°C y 30 minutos, o una pasteurización a temperatura alta, 72°C por 15 segundos.

Esterilización: se realiza por vapor de agua a presión, se utilizan las siguientes condiciones, 120° a una atmósfera de presión, 127° a una atmósfera y media de presión, o a 134° a 2 atmósferas de presión, durante 20 a 30 minutos.

Ultra pasteurización: consiste en una esterilización a una temperatura de 150°C por menos de un segundo.

#### 1.5.3.2 Mediante frío:

Refrigeración: se mantiene el alimento a bajas temperaturas (2 – 8°C) sin llegar a la congelación.

Congelación: se usan temperaturas inferiores al punto de congelación (- 18°C) durante un periodo corto.

Ultracongelación: el alimento es sometido a una temperatura entre -35 y -150°C.

#### **1.5.3.3 Por deshidratación:**

Secado: consiste en la pérdida parcial de agua en condiciones ambientales naturales o con una fuente de calor suave y corriente de aire.

Concentración: consiste en una eliminación parcial de agua en alimentos líquidos.

Liofilización: es la desecación de un producto previamente congelado que mediante sublimación del hielo al vacío y se consigue un polvo fino muy estable, el cual permite la conservación de la calidad organoléptica de los alimentos así como de su valor nutritivo

#### **1.5.3.4 Mediante aditivos:**

De origen natural (vinagre, aceite, azúcar, sal, alcohol) o bien de origen industrial debidamente autorizados.

#### **1.5.3.5 Por irradiación:**

Consiste en la aplicación sobre el alimento de radiaciones ionizantes bajo un estricto control.

#### **1.5.3.6 Métodos de conservación química:**

Están basados en la adición de sustancias que actúan modificando químicamente el producto, por ejemplo disminuyendo el pH, salazón, adición de azúcar, curado, ahumado, acidificación.<sup>18</sup>

### **1.5.4 Secado de granos**

El proceso de secado es de gran importancia ya que este disminuye la actividad de agua lo cual evita el deterioro que puede sufrir el grano por la proliferación de microorganismos, entre los que destacan los hongos; además nos evita otras reacciones de deterioro e inhibe la germinación de las semillas preservando así su calidad nutritiva y su aspecto.

El proceso de secado se realiza para obtener valores bajos de humedad en el grano y así evitar problemas en su almacenamiento, el contenido de humedad



UNIVERSIDAD DE CUENCA

de los granos para asegurar su almacenamiento es de 11-13%, en los principales tipos de granos.<sup>19</sup>

#### 1.5.4.1 Parámetros de secado

Los parámetros que influyen en el secado son la temperatura, la humedad relativa ambiente y el flujo de aire de secado, por lo tanto en cuanto menor sea la temperatura ambiente, mayor será la cantidad de energía necesaria para calentar ese aire. En cambio un aumento de temperatura significa un menor consumo de energía por agua evaporada y un mayor producto secado. Cabe señalar que, temperaturas de secado muy elevadas pueden causar daños en los granos.

Es universalmente conocido que la temperatura óptima de secado es de 40°C, pero se tiene que considerar el tiempo de exposición del producto con el aire de secado para así llegar a las condiciones idóneas en el tratamiento térmico.<sup>20</sup>

#### 1.5.5 Alteración de los alimentos

**Alteraciones biológicas:** La principal causa de alteración en los alimentos es la de origen microbiano, debida a mohos, levaduras y bacterias, como producto de estas alteraciones se observan cambios en la viscosidad, licuefacción, acidificación alcalinización, rancidez, putrefacción y producción de gases.

**Alteraciones químicas:** Existen también alteraciones químicas y enzimáticas, las cuales generan, oxidación de la grasa con generación de sabores y colores inusuales, reacciones de pardeamiento químico y enzimático, formación de pigmentos y sabores extraños por la acción de peroxidases.

**Alteraciones físicas:** Estas alteraciones se dan lugar por golpes, presencia de polvo, insectos, roedores, radiaciones o cualquier objeto ajeno al producto.<sup>21</sup>

#### 1.5.6 Uso de aditivos químicos en alimentos

Los aditivos químicos son sustancias que se adicionan intencionalmente con el fin de conseguir estabilidad en el alimento, facilitar la correcta ingestión de los



UNIVERSIDAD DE CUENCA

alimentos, o incluso apoyar algunas de sus propiedades sensoriales, sin influir en sus propiedades nutricionales. Estos son utilizados para evitar que un alimento sometido a un proceso se estropee, o bien darle una presentación más agradable para el consumidor.<sup>22</sup>



## CAPITULO II

### 2 Metodología

#### 2.1 Tipo de estudio

El estudio es de tipo descriptivo, cuantitativo.

#### 2.2 Universo de estudio

El universo de estudio comprende un lote de 2 Kg. de las semillas de chocho. El chocho proveniente del cantón Guamote de la provincia de Chimborazo, el cual se encuentra a una altura de 3.050 metros sobre el nivel del mar (msnm) y a una temperatura promedio de 12 °C.

#### 2.3 Tamaño de muestra.

Se utilizará el plan de muestreo de alimentos estandarizado por el Laboratorio de Alimentos y Nutrición. (Proyecto de Alimentación; Nutrición y Salud VLIR-IUC & Universidad de Cuenca 2010) (ANEXO 1)

El tamaño de la muestra de semillas de chocho es 200g, y para la del producto terminado es el contenido de un envase de 500g.

La muestra de las semillas del chocho será en número de tres.

La muestra del producto terminado será en número de uno, del cual se realizará el análisis bromatológico por triplicado y microbiológico por duplicado.

#### 2.4 Criterios de inclusión

Selección de las semillas del universo de estudio que se encuentren en buen estado, libres de impurezas, lesiones, plagas, entre otras.

#### 2.5 Criterios de exclusión

Semillas que no pertenezcan al género en estudio o que estén fuera del universo de estudio.



## 2.6 Materiales, Equipos y Reactivos

### 2.6.1 Materia Vegetal

Los granos de Chocho fueron comprados en un comercial del mercado 10 de Agosto de un solo lote y cuyo origen fue el cantón Guamote de la provincia de Chimborazo. A partir de este se realizó el proceso de limpieza y selección de materia prima para la elaboración del suplemento.

### 2.6.2 Equipos

- Estufa
- Horno de calcinación (Mufla)
- Balanza analítica
- Balanza de precisión
- Equipo de digestión
- Equipo de destilación Kjeldalh
- Extractor Soxhlet
- Tunel desecador de alimentos

### 2.6.3 Materiales

- Pipetas
- Varillas de vidrio
- Vaso de 250 mL
- Probeta 100 mL
- Luna de reloj
- Papel filtro
- Balón Kjeldahl
- Erlenmeyer 250 mL
- Probeta 10 mL
- Bureta 50 mL
- Desecador
- Crisol de porcelana
- Tubos de Ensayo



- Tubos con tapa rosca
- Pinzas
- Placas Petrifilm

#### **2.6.4 Reactivos**

- Éter de petróleo p. a. (para análisis)
- Selenio metálico en polvo.
- Hidróxido de Sodio comercial.
- Hidróxido de Sodio químicamente puro.
- Ácido Sulfúrico concentrado comercial.
- Reactivo de Dragendorff: solución ácida de iodobismutato de potasio.
- Agua Destilada.

### **2.7 Procesamiento de la materia prima (ANEXO 2)**

#### **2.7.1 Recepción de la materia prima**

La selección se realizó manualmente. Se escogió los granos que se encontraron dañados o con alguna impureza para separarlos del lote.

#### **2.7.2 Lavado del grano**

Se realizó con agua potable a temperatura ambiente con el fin de eliminar las impurezas más pequeñas.

#### **2.7.3 Pesado del grano**

Se midió la masa del grano limpio y se secó para el cálculo del rendimiento final.

### **2.8 Eliminación de los alcaloides (ANEXO 3)**

#### **2.8.1 Método de concentración de la proteína**

Para lograr concentrar la proteína del chocho se debió eliminar la parte tóxica que son los alcaloides y la parte no proteica que es la cáscara, las cuales no tienen ningún valor funcional en el producto final.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Este proceso es conocido también como desamargado o deslupinizado, se trata de la extracción de alcaloides mediante un solvente en este caso el agua, el proceso que se siguió fue el siguiente:

- A la materia prima lavada se le puso en ollas, se dejó en remojo por un día a temperatura ambiente con un exceso de agua potable ya que el chocho tiende a absorber gran cantidad de agua,
- Al fin del remojo se llevó estas ollas a cocción por el lapso de una hora a ebullición.
- Se procedió al lavado continuo del chocho con agua potable a temperatura ambiente para la eliminación total de los alcaloides, se realizó cambiando el agua de las ollas cada 6 horas por 10 días.

## 2.9 Procesamiento del chocho desamargado (ANEXO 4)

### 2.9.1 Descascarado del chocho

Una vez extraído los alcaloides del chocho se procedió a descascararlo, esto se realiza de forma manual presionando las semillas y provocando así el descascarado en las ollas con el chocho lavado, se separó el cotiledón de la cáscara con ayuda de un cedazo, asegurando así su total eliminación.

### 2.9.2 Secado del chocho

El secado se realizó en el túnel de deshidratación de alimentos del Laboratorio Tecnológico de la Universidad de Cuenca, la temperatura que se alcanzó en el túnel fue de 32-34°C y el secado duró 10 horas, como resultado se obtuvo un grano con la humedad de 7,9%, dicha humedad fue la adecuada para el posterior molido.

### 2.9.3 Molido del chocho

Este proceso se realizó en un molino industrial para granos, lo cual es un proceso rápido y sencillo, se obtuvo como resultado un polvo fino el cual se hizo pasar por un cedazo casero para que este polvo sea homogéneo,



UNIVERSIDAD DE CUENCA

posteriormente se midió el tamaño del polvo con una malla y dio como resultado que el tamaño de partícula era aproximadamente 750 ug.

## **2.10 Diseño de formulación del suplemento a partir de *Lupinus mutabilis*.**

A partir de la harina de chocho se realizó la formulación del suplemento nutricional, para lo cual se añadió un edulcorante y un conservante, esto con el fin de asegurar la estabilidad del alimento y darle un sabor agradable. Se estableció como edulcorante a la sacarina (edulcorante no calórico) y como conservante al benzoato de sodio para asegurar la estabilidad del suplemento en concentración mínima.

Posteriormente, a esta mezcla se le añadió distintos saborizantes y se realizaron pruebas de degustación por parte de los investigadores, las cuales consistieron en probar los saborizantes en diferentes concentraciones con el fin de encontrar la concentración adecuada de estos, para cada saborizante se realizaron un promedio de 4 pruebas, el resultado quedó exclusivamente a criterio de los tesistas. Así, se obtuvo que para el saborizante de guineo era necesario solamente 2% mientras que para el saborizante de chocolate era necesario al 7% y para el de vainilla al 5%.

La presentación de los saborizantes de chocolate y de guineo era en polvo, lo cual facilitó la mezcla; en cambio el saborizante de vainilla era en estado líquido, lo cual dificultó la mezcla; para solventar este problema se utilizó un nebulizador.

Con las consideraciones expuestas anteriormente se procedió a preparar 3 formulaciones con saborizante y una cuarta sin saborizante, para practicar el análisis sensorial las cuales estuvieron constituidas como constan en la siguiente tabla 7.

**Tabla 4. Concentraciones de Saborizantes.**

Saborizante	Peso de harina de chocho	Cantidad de saborizante	Total del producto	Código
Guineo	98g	2g	100g	205
Chocolate	93g	7g	100g	469
Vainilla	95g	5g	100g	318
Sin Sabor	100g	0g	100g	579

## 2.11 Valoración bromatológica del grano de chocho y del suplemento obtenido

### 2.11.1 Determinación de la humedad

**Fundamento:** consiste en someter la muestra a un proceso de secado mediante calentamiento a una temperatura suficiente para perder el agua por evaporación hasta peso constante. La diferencia de masas antes y después del secado permite la estimación del contenido de agua en la muestra.<sup>23</sup>

#### Procedimiento: (ANEXO 5)

Efectuar el análisis en triplicado

- Preparación de las cápsulas de porcelana: Se introdujeron en la estufa tres cápsulas de porcelana limpias durante 15 minutos a 103°C.
- Luego se trajeron y se enfriaron en un desecador durante 15 minutos.
- Finalmente se pesaron en la balanza analítica con aproximación al 0.1 mg. (**P**)
- Pesado de la muestra: Se pesó 5g aproximadamente de muestra en cápsulas de porcelana preparadas (**P1**) y se introdujeron las cápsulas en la estufa a 103 °C durante una hora. Esto se realizó por triplicado.
- Pesado de la muestra seca: Transcurrido ese tiempo se trajeron las cápsulas de la estufa y se dejaron en desecador por 15 min hasta que se enfríen. Se pesaron las cápsulas (**P2**) y se repitió el proceso de calentamiento, enfriamiento y pesaje hasta alcanzar peso constante.



- El porcentaje de humedad en la muestra se calculó por diferencia de masas.

### Cálculos:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{gramos de agua evaporada}}{\text{Masa de muestra}} \times 100$$

$$\text{Gramos de Agua evaporada} = P_1 - P_2$$

$$\text{Masa de muestra} = P_1 - P$$

$$\% \text{ P/P Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P} \times 100$$

### 2.11.2 Determinación del contenido en materia grasa método de Soxhlet

**Fundamento:** Para conocer el porcentaje de materia grasa en el producto se utilizó el procedimiento de extracción que separa la grasa con un disolvente adecuado, éter de petróleo, y evaporando éste antes de proceder a la pesada del residuo graso obtenido. La extracción en esta práctica se llevó a cabo en un equipo Soxhlet.<sup>24</sup>

#### Procedimiento: (ANEXO 6)

Efectuar el análisis en triplicado

- Se pesaron con precisión (balanza analítica) 1 g de la muestra seca en papel filtro (**m**), y se introdujeron en sendos cartuchos de celulosa.
- Se colocaron los cartuchos en el Soxhlet, y antes fueron pesados en balanza analítica los balones en los que se va a recoger la materia grasa (**P1**).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Se añadió 200mL de éter de petróleo, y se acondicionaron el montaje para que el éter recircule durante 16 sifonamientos (2 horas), se ajustó la temperatura de los calentadores.
- Pesado: Una vez finalizado el proceso de extracción se retiraron los recipientes con la grasa y se introdujeron en la estufa a 103 °C durante 30 minutos para eliminar todos los restos de disolvente.
- Se trajeron los recipientes de la estufa y se dejaron en el desecador durante otros 15 minutos para enfriar.
- Finalmente se pesaron los recipientes con la grasa (**P2**) y se realizaron los cálculos.

### Cálculos:

$$\% \text{ P/P Grasa} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{m}} \times 100$$

m

#### 2.11.3 Determinación de proteínas por método de Kjeldahl

**Fundamento:** Se utiliza ácido sulfúrico concentrado a ebullición, el cual realiza la digestión de la materia orgánica de la muestra y dando como resultado la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco, se alcaliniza para obtener el hidróxido de amonio volátil y que se recoge en ácido sulfúrico valorado para su posterior titulación con hidróxido de sodio de la misma concentración.<sup>25</sup>

#### Procedimiento: (ANEXO 7)

Efectuar el análisis por triplicado

- Se trituró la muestra en un mortero se trabajó con chocho seco.
- Se pesó en balanza analítica de 2,5 gramos de muestra.
- Se colocó la muestra en balón Kjeldahl
- Además se colocó 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y 200mg de selenio como catalizador
- En la campana se calentó la hornilla y se colocó el balón agitándolo cada 30 minutos



- La digestión acabó cuando el residuo en el balón tomó un color verde aceituna
- Se dejó enfriar el residuo y se hizo correr agua destilada por las paredes del balón
- Se recogió esta mezcla en un balón de aforo de 250mL y se lavó el balón Kjeldahl 3 veces.
- Se aforó a 250 mL y se agitó el balón.
- Se recogió 25 mL del aforo y se colocó en el tubo destilador
- En un Erlenmeyer se colocó 10 o 20mL de ácido sulfúrico 0.1N con 10 mL de agua destilada y dos o tres gotas del indicador rojo de metilo, esta solución nos sirvió para la recolección del destilado y tomó un color rosa.
- El tubo destilador se colocó en el destilador y se encendió, se recibió el destilado en el Erlenmeyer.
- Se llenó una bureta con hidróxido de Sodio 0.1N para titular el destilado
- Una vez terminada la destilación se procedió a la titulación del erlenmeyer con hidróxido de sodio 0.1N para saber cuánto ácido sulfúrico 0.1N fue consumido
- El viraje de la titulación se dio cuando cambió el color del destilado de rosa a un ligero naranja
- El porcentaje de nitrógeno se calculó de la siguiente forma

$$\%(\text{P/P}) \text{ N}_2 = (\underline{\text{V1.N1.K1}} - \text{V2.N2.K2}) \times 0.014 \times 100 \times 250$$

Peso muestra X 25

$$\%(\text{P/P}) \text{ N} \times 6.25 = \% \text{ P/P proteína}$$

**En donde:**

V1 = volumen del ácido consumido

N1 = normalidad del ácido

K1 = constante del ácido

V2 = volumen del hidróxido consumido

N2 = normalidad del hidróxido

K<sub>2</sub> = constante del hidróxido

0.014 = miliequivalente del nitrógeno

#### 2.11.4 Determinación de cenizas totales método de calcinación

**Fundamento:** Las cenizas de los alimentos son el residuo inorgánico que queda después de eliminar la materia orgánica por medio del calor de una mufla u horno a 550°C.<sup>26</sup>

**Procedimiento:** (VER ANEXO 8)

Efectuar el análisis en triplicado

- Se pesó con precisión (balanza analítica) en una cápsula previamente calcinada y tarada (**m**) 5 gramos de muestra homogeneizada (**m<sub>1</sub>**).
- Se colocó en la mufla e incineró a 550 °C por 8 horas, hasta cenizas blancas o grisáceas.
- Se enfrió la mufla y las capsulas en desecador y pesarlas (**m<sub>2</sub>**).

**Cálculos:**

$$\% \text{ P/P Cenizas} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

#### 2.11.5 Determinación de carbohidratos por método de Weende (sistema de análisis proximal de Weende).

**Fundamento:** El contenido total de carbohidratos se calculó por diferencia teniendo en cuenta el contenido de los otros componentes tales como la humedad, grasa total o bruta, proteína total o bruta, cenizas.<sup>27</sup>

**Cálculos:**

$$\text{ELN} = 100 - (\% \text{ P/P Cenizas} + \% \text{ P/P Humedad} + \% \text{ P/P Proteína Bruta} + \% \text{ P/P Grasa Total})$$

ELN = Extracto Libre de Nitrógeno



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ELN: Almidón, glucógeno, azúcares, celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas, pigmentos, ácidos grasos de bajo peso molecular, vitaminas hidrosolubles.

### 2.11.6 Determinación de minerales por absorción y emisión atómica

**Fundamento:** La determinación de minerales (calcio, hierro) se realiza por mineralización de la muestra con un ataque ácido y lectura por absorción o emisión atómica. La espectroscopia de absorción atómica se basa en el principio de que los átomos libres en estado fundamental pueden absorber la luz a una cierta longitud de onda. La absorción es específica por lo que cada elemento absorbe a longitudes de onda únicas.

En cambio, la emisión atómica se basa en la medición de la radiación de la línea espectral.<sup>28</sup>

#### Procedimiento: (ANEXO 9)

Se efectuó el análisis por triplicado

- Preparación de la muestra: Se pesó con precisión (balanza analítica) 5 gramos de muestra en un vaso de precipitación.
- Se añadió 10mL de ácido nítrico concentrado más una cantidad similar de agua destilada.
- Se calentó en la hornilla eléctrica con agitación continua, vapores rojizos son la señal del fin de este paso.
- Se filtró en embudo con papel filtro con varios lavados y se recogió el filtrado en balón de aforo de 100mL.
- Se aforó el filtrado a 100mL.
- Preparación de los patrones: Se prepararon patrones de 100 ppm de hierro y calcio.
- Se tomó 10 mL de la solución estándar de 1000 ppm de calcio y hierro y se aforó a 100 mL.
- A partir de las soluciones de 100 ppm se prepararon los patrones de 1, 2, 3, 4 y 5ppm.



- Lectura en el Equipo: se colocó la respectiva lámpara para calcio y hierro.
- Se preparó el equipo para lectura por absorción atómica para el hierro.
- Se leyó los patrones y se realizó la lectura de la muestra.
- El equipo realizó la curva y dio la concentración de hierro en ppm.
- Se preparó el equipo para lectura por emisión atómica para el calcio.
- Se leyó los patrones y se realizó la lectura de la muestra.
- El equipo se realizó la curva y nos dio la concentración de calcio en ppm.
- Se realizaró los cálculos respectivos.

### Cálculos:

L= ppm del mineral en la muestra.

M= peso de la muestra

$$\% \text{ P/P de mineral} = \frac{L \times 100 \times 100}{1000 \times M}$$

### 2.11.7 Determinación cualitativa de los alcaloides

Reactivos de Dragendorff: solución ácida de yodo bismutato de potasio.

La presencia de alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona este reactivo a una solución ácida de alcaloides.

Interpretación de los resultados, en cruces:

(-) Líquido claro

(+) Líquido turbio

(++) Precipitado ligero

(+++) Precipitado abundante.<sup>29</sup>

**Procedimiento:** Se trabaja con el solvente utilizado para la extracción de los alcaloides, en nuestro caso agua potable. (ANEXO 10)



- En un tubo de ensayo se colocó de 1 a 2mL del solvente.
- Se acidificó la muestra con una gota de ácido clorhídrico concentrado.
- A la solución acidificada se le calentó hasta ligera ebullición.
- Luego se colocó de 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observó la reacción.

#### 2.11.8 Análisis microbiológico (Placas Petrifilm)

**Fundamento:** Son medios de cultivo en formato listo para sembrar la muestra. Constituidas de adhesivos, películas y nutrientes. Semejantes a las metodologías tradicionales para llevar a cabo pruebas microbiológicas rápidas.<sup>30</sup>

#### Procedimiento:(ANEXO 11)

- Se preparó el agua de peptona al 0,1% en agua destilada, y se coloca 90 mL en cada triturador y 9 mL en cada tubo.
- Esterilización del material: Se esterilizó todo el material necesario incluido el agua de peptona en los envases.
- Preparación de la muestra: Se pesó 10 gramos de muestra y se colocó en cada shaker con los 90 ml de agua de peptona estéril y se homogenizó con ayuda de un motor de licuadora, además se colocó 1mL de esta solución en un tubo con 9 mL de agua de peptona, así obtenemos las diluciones  $1\times10^{-1}$  y  $1\times10^{-2}$ .
- Se rotuló las placas petrifilm y se procedió a sembrar cada dilución con 1mL de muestra en cada placa.
- Luego de esto se colocó las placas en la estufa a una determinada temperatura, la placa para Mohos y Levaduras a 22°C y el resto de placas a 35°C.
- Se observaron los resultados a las 24 y 48 horas.

#### 2.11.9 Requisitos microbiológicos.

Con el fin de valorar la calidad microbiológica del producto se comparó el producto con una norma de referencia. Debido a que no existe una norma



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INEN de referencia para el suplemento proteico de chocho, se consultó una norma similar al producto, para ello se consideró la norma INEN. 616:2006 que corresponde a la harina de trigo por su parecido en el aspecto, la cual establece los siguientes requisitos microbiológicos.

**Tabla 5.** Requisitos microbiológicos de la harina de trigo.

Requisitos	Unidad	Límite máximo
Aerobios mesófilos	UFC/g	100 000
Coliformes totales	UFC/g	100
Mohos y levaduras	UFC/g	500

**Cálculos:**

$$\text{UFC/g} = \frac{\text{Total de colonias en placas} \times \text{Factor de dilución}}{\text{mL de muestra sembrada}}$$

## 2.12 Análisis sensorial del suplemento proteico

### 2.12.1 Fundamento

Es la valoración de una persona para aceptar o rechazar los alimentos por medio de las sensaciones experimentadas al ver o ingerir los alimentos. Este análisis se realiza para adaptar al producto a las necesidades y gustos del consumidor, examinando las características organolépticas del alimento mediante los sentidos obteniendo como resultado datos cuantificables.<sup>31</sup>

### 2.12.2 Protocolo para la degustación de los batidos del suplemento proteico elaborado a partir de *Lupinus mutabilis* “chocho”

Las pruebas de degustación del suplemento se realizaron con un grupo de 30 panelistas entre hombres y mujeres comprendidos entre la edad de 18 a 50 años

La encuesta se llevó a cabo en el laboratorio de alimentos en el Tecnológico de la Facultad de Ciencias Químicas.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Para la selección de los catadores se tomó en cuenta la edad, el sexo, y no debían haber comido nada 2 horas antes.

Se prepararon los batidos de acuerdo con la fórmula establecida y códigos respectivos; los batidos fueron elaborados con 300 gramos de suplemento en 1 litro de leche con 125g de azúcar común, la presentación para los catadores fue en un vaso de plástico con una capacidad para 50mL. Se identificó a cada una con un código de 3 números, sin seguir un orden específico; como se puede ver en la tabla 9.

**Tabla 6.** Identificación de las muestras según el orden de presentación en la degustación.

Código de Muestra	Sabor del suplemento
1	205
2	Vainilla
3	Chocolate
4	Ninguno

### 2.12.3 Procedimiento para la degustación del suplemento (ANEXO 12)

Información: Preguntar a cada panelista la hora de la última comida e informar al catador las propiedades del suplemento proteico.

Se ubicó a los panelistas en una habitación de forma individual con el fin de minimizar problemas de distracción y generar un ambiente propicio para la degustación.

Se dio información acerca del producto, la forma de probarlo y calificarlo. El producto en polvo es disuelto en leche y añadido azúcar. Para probarlo se debe ingerir un bocado y tenerlo en la boca por pocos segundos. Entre cambio de sabores enjuagar la boca con agua o con pan baguette.

Luego de finalizada la degustación se procedió a calificarlo, el catador procedió anotando a su parecer en cada uno de los caracteres organolépticos que presenta el cuestionario. El cuestionario fue elaborado en base a las



UNIVERSIDAD DE CUENCA

necesidades de la investigación, lo principal era definir el sabor con mayor aceptabilidad, y con un número de 30 degustadores, para lo cual se modificó el cuestionario de escala Hedónica de Rámirez, J. (2012).<sup>32</sup> (ANEXO 13)

Mientras duró la degustación el investigador no tuvo contacto con los panelistas salvo para asistir en la prueba, ni a los panelistas se les permitió conversar entre ellos ni intercambiar ideas sobre la degustación.

El tiempo de duración por muestra en la degustación fue de 2 minutos para la degustación y calificación por muestra por lo que en total el catador se demoró entre 5-7 minutos y la valoración se realizó conforme a la escala Hedónica modificada.

Para el puntaje, cada uno de los cuestionarios estuvieron divididos por características organolépticas y en escala que va desde: me disgusta mucho con valor de 1 hasta me gusta mucho con valor de 5, se procedió a la suma por carácter de un total de 30 encuestas lo que dio como techo un puntaje máximo de 150 puntos, el cual sería el 100% y se realizó los cálculos con los puntajes obtenidos de los panelistas.

## 2.13 Etiquetado y envasado de suplementos

El proceso de envasado sirve para la protección ante la humedad, la oxidación producida por el oxígeno del aire, la luz, etc. Por lo que los envases son considerados formas de conservación de alimentos.

Debido a que el producto presenta la propiedad de higroscopía, se requiere de un envase que evite el contacto con la humedad, además debida a la presencia de grasas se requiere evitar el contacto con la luz, por lo tanto el envase idóneo es de plástico.

Para la presentación del producto se utilizó un envase de plástico de polietileno con un peso neto aproximado de 500 g.

El objetivo del etiquetado de los productos alimenticios es garantizar a los consumidores una información completa sobre el contenido nutricional y la



UNIVERSIDAD DE CUENCA

composición del producto, a fin de proteger su salud y sus intereses. La etiqueta puede contener también información relativa a una característica determinada, como el origen del producto o el método de producción.<sup>33</sup>

Mediante la norma INEN NTE 1334.2.2011 se realizó el etiquetado con los datos obtenidos. (ANEXO 14)

## 2.14 Control de calidad interno

### 2.14.1 Coeficiente de variación.

Es el cociente entre la desviación estándar y la media aritmética, mostrando para bajos valores una alta concentración de los datos. Su expresión es dada por:

$$C.V. = \frac{Sx}{x}$$

Donde x son la media y Sx la desviación estándar, respectivamente, para una misma población.

En ocasiones se suele presentar la información mediante el por ciento, sobre todo al momento de comparar dos muestras, por lo que el coeficiente suele presentarse como:

$$C.V. = \frac{Sx}{x} \times 100$$

Su utilidad radica en que se puede determinar que tanta variabilidad existe entre dos muestra en las que inclusive la información no tienen las mismas unidades o se trata de datos diferentes. (Universidad Michoacana de San José de Hidalgo, 2008)<sup>34</sup>

## CAPITULO III

### 3 Resultados y discusión

#### 3.1 Contenido de Nutrientes en el suplemento elaborado a partir de *Lupinus mutabilis*

Al finalizar el análisis bromatológico del suplemento terminado los resultados fueron los siguientes:

**Tabla 7.** Tabla de resultados del análisis bromatológico del suplemento proteico.

NUTRIENTE	PORCENTAJE (% P/P)
PROTEINAS	33.6
GRASAS	28.3
CARBOHIDRATOS	28.2
CENIZAS	1.7
HUMEDAD	8.2
HIERRO	0.00347
CALCIO	0.00783

##### 3.1.1 Contenido de proteínas

Se realizó una determinación de proteínas en las semillas sin procesar, con el fin de conocer su contenido al inicio del proceso (Tabla 8) y compararlo con la concentración en el suplemento terminado (Tabla 7).

**Tabla 11.** Tabla de resultados de la determinación de proteína en semilla de chocho sin procesar.

ANALISIS	DATOS		
Proteína	24.33 % P/P	Media:	<b>25.4 % P/P</b>
	25.552 % P/P	Desviación:	0.935502004
	26.168 % P/P	Coe. Var:	3.690343212



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La primera determinación de proteínas con la semilla de chocho sin procesar fue de 25.4 g/100g, mientras que el contenido de proteínas obtenido en el suplemento o producto procesado fue de 33.6 g/100g por lo que el método demuestra ser adecuado para la concentración de proteínas para el chocho. Además asegura un aporte valioso para la alimentación. La concentración de proteínas en la semilla de chocho fue menor a la descrita en el proyecto Norma Andina <sup>35</sup> que menciona que puede ser de 35 a 48 g/100g esto puede deberse a diferentes factores como el pH del suelo, el tipo de suelo, la altura, al ciclo de cultivo, preparación del suelo, la presencia de heladas y a que no hay bibliografía actualizada de condiciones actuales del grano y de las variedades.

### **3.1.2 Contenido de grasas**

El contenido de grasas en el producto al final fue de 28.3 % este resultado a pesar de ser elevado concuerda con la bibliografía del estudio “Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi” realizada por Gutiérrez Urrutia, puesto que al igual que las proteínas este valor también aumenta en el producto final.

### **3.1.3 Contenido de humedad**

El contenido de humedad del producto terminado fue de 8.2 % por lo que se limita el medio para el crecimiento de microorganismos y se mejora la preservación del producto, puesto que lo recomendable es que sea menor al 15 % según la norma INEN 616:2006.

### **3.1.4 Contenido de cenizas**

El contenido de cenizas obtenido en el suplemento fue de 1.7 % lo cual incluye toda la materia inorgánica y el contenido de minerales. Este es menor al valor de cenizas en la semilla de chocho cruda según el “Proyecto Norma Andina”.<sup>35</sup>

### **3.1.5 Contenido de minerales**

En cuanto a los micronutrientes más abundantes en el Chocho, el suplemento aporta 3.5 mg/100g de Hierro y 7.8 mg/100g de Calcio, siendo el valor recomendable de consumo de Hierro 14mg/día y de Calcio de 800 mg/día,



UNIVERSIDAD DE CUENCA

según la norma INEN 1334-2:2011. Lo cual nos dice que el micronutriente más abundante en el Chocho es el calcio.

### 3.1.6 Contenido de carbohidratos por método de Weende

El contenido de carbohidratos en el suplemento fue de 28.2 % el cual se obtuvo por aplicación de fórmula en la que se resta los porcentajes de proteínas, grasas, humedad y cenizas, dicho valor concuerda con la bibliografía del Proyecto Norma Andina.

## 3.2 Análisis sensorial

La prueba de degustación se realizó con la finalidad de evaluar el grado de satisfacción o aceptabilidad de las fórmulas de suplemento preparadas y así elegir la fórmula con mayor aceptación.

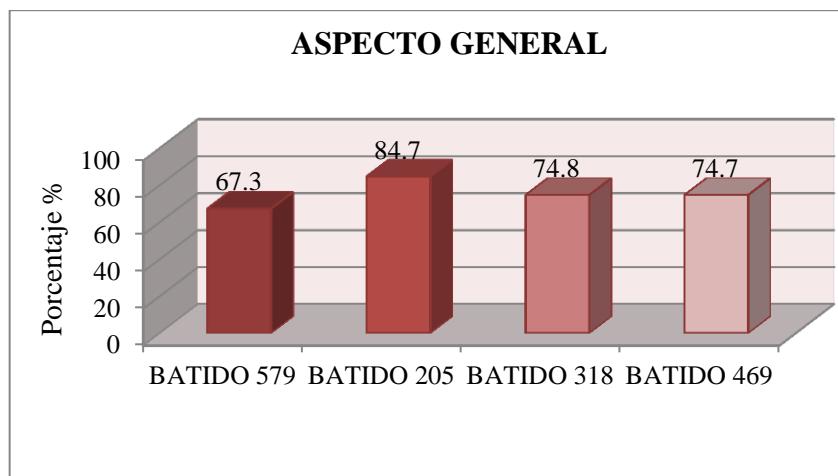
### 3.2.1 Clasificación por atributos

Con los resultados obtenidos posteriores a las pruebas de degustación se pudo evaluar la aceptabilidad por características organolépticas tales como:

#### 3.2.1.1 Aspecto General

En cuanto a su aspecto general se obtuvo los siguientes datos, considerando como aceptable un porcentaje superior al 70%

Figura 1. Porcentaje de aceptabilidad del “Aspecto General” de los batidos.

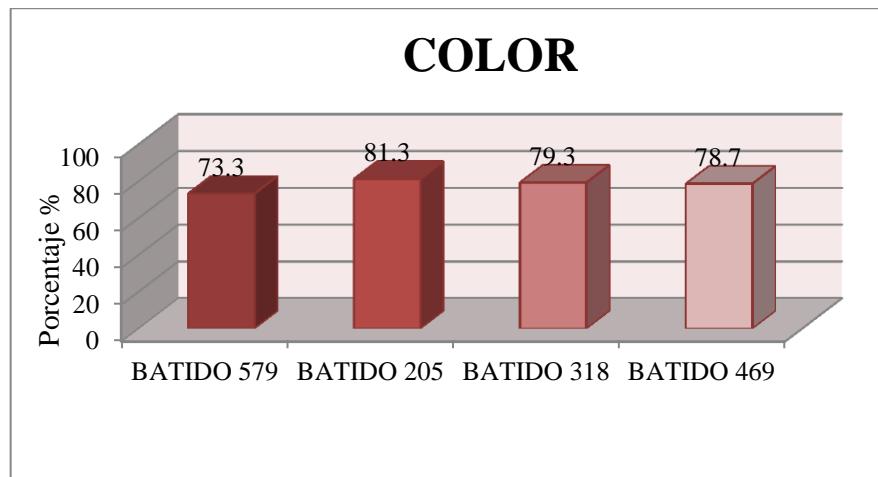


Como se observa en la figura 1 a los batidos elaborados con las fórmulas 205, 318 y 469 se encuentran por encima del porcentaje mínimo de aceptabilidad. En este caso el orden de aceptación de mayor a menor sería:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 318
3. BATIDO 469

### 3.2.1.2 Color

Figura 2. Porcentaje de aceptabilidad del “Color” de los batidos.

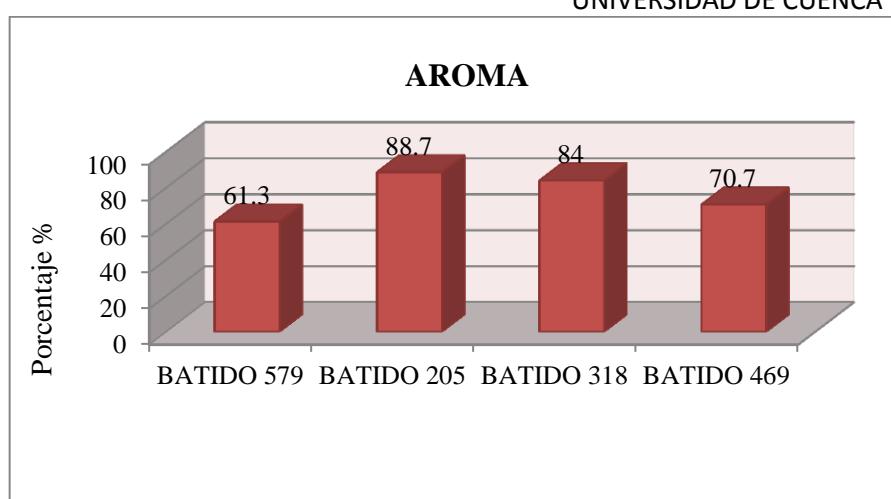


En cuanto a los resultados obtenidos a “Color” como se observa en la figura 2 todos se encuentran sobre el límite mínimo de aceptación. Según los porcentajes en orden de mayor a menor sería:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 318
3. BATIDO 469
4. BATIDO 579

### 3.2.1.3 Aroma

Figura 3. Porcentaje de aceptabilidad del “Aroma” de los batidos.

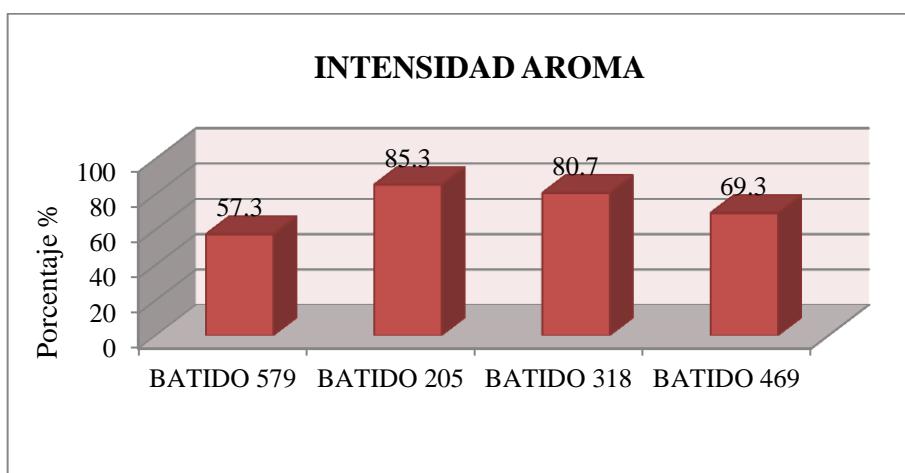


Los datos de la figura 3 nos indican que los batidos 205 y 318 sobrepasan esta característica con gran diferencia con respecto al límite mínimo, mientras que el BATIDO 469 apenas logra superar el límite inferior. De donde se obtiene el siguiente orden:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 318
3. BATIDO 469

#### **3.2.1.4 Intensidad del aroma**

Figura 4. Porcentaje de aceptabilidad del “Intensidad del Aroma” de los batidos.

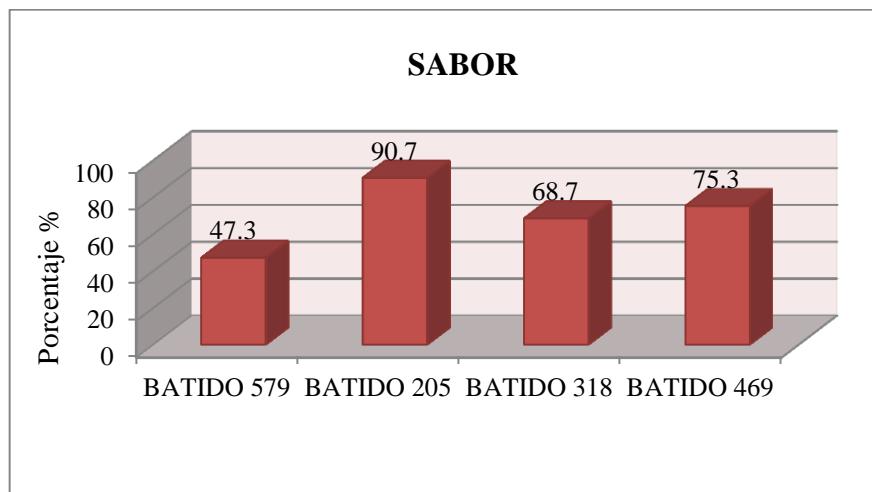


Los datos indican una aceptación únicamente de 2 batidos: BATIDO 205 y BATIDO 318. Por lo que el orden seria:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 318

### 3.2.1.5 Sabor

Figura 5. Porcentaje de aceptabilidad del “Sabor” de los batidos.

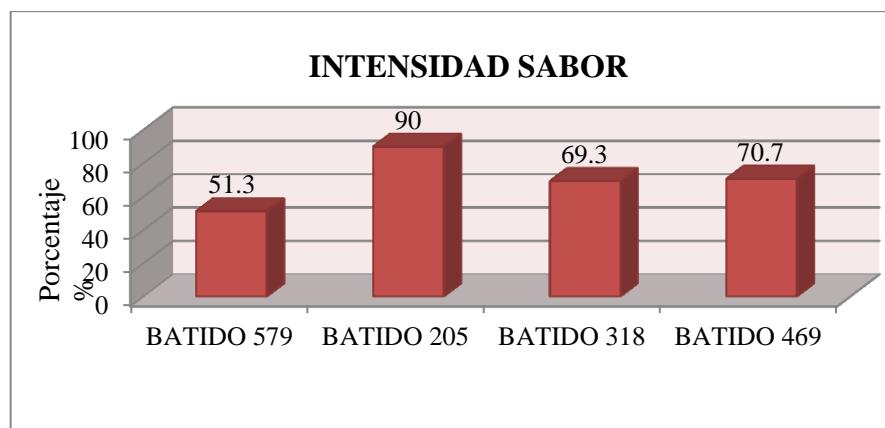


Como se puede observar en la figura 5 referente al sabor, el que más gustó fue el del BATIDO 205, aunque otro que superó el límite mínimo de aceptabilidad fue el BATIDO 469. Por lo que el orden sería:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 469

### 3.2.1.6 Intensidad de sabor

Figura 6. Porcentaje de aceptabilidad del “Intensidad de Sabor” de los batidos.

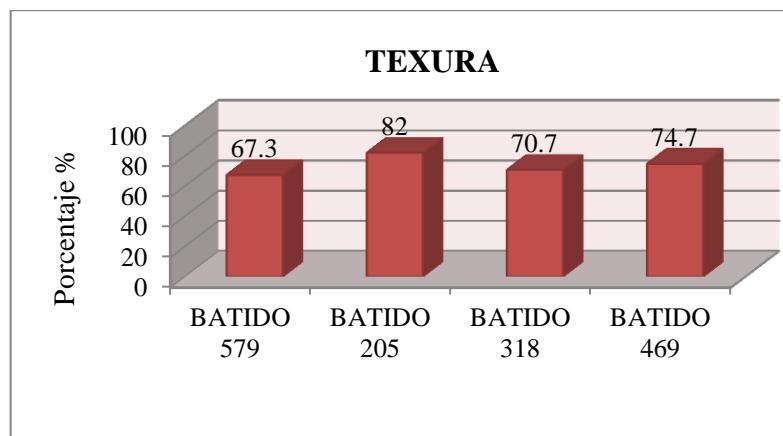


Los resultados del análisis sensorial en cuanto a la intensidad del sabor tal como se observa en la figura 6 muestran que el BATIDO 205 supera el límite de aceptabilidad con gran diferencia mientras que el BATIDO 469 ligeramente supera el límite. Por lo que el orden de aceptabilidad sería:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 469

### 3.2.1.7 Textura

Figura 7. Porcentaje de aceptabilidad del “Textura” de los batidos.



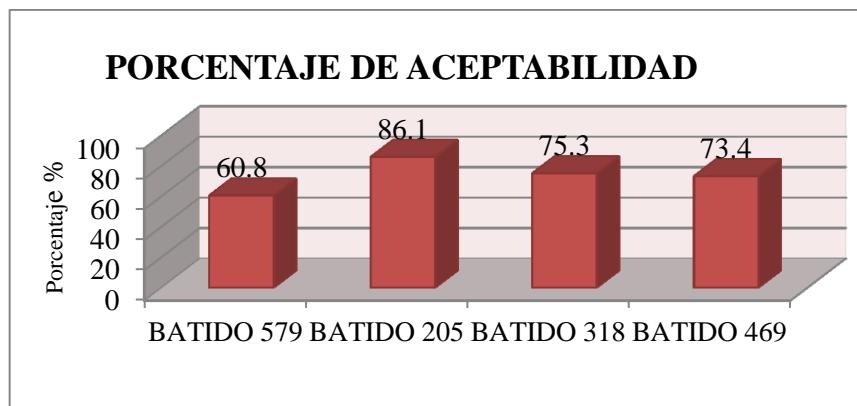
Según se puede observar en la figura 7 los batidos 205, 318 y 469 superan el límite para la aceptabilidad pero el que sobresale es el BATIDO 205, por lo que el orden sería:

1. BATIDO 205
2. BATIDO 469
3. BATIDO 318

### 3.2.2 Calificación global de los batidos

Se evaluó la aceptabilidad de manera general tomando en cuenta todos los atributos del test sensorial y considerando como límite mínimo de aceptabilidad el 70%.

Figura 8. Resultados del análisis sensorial de los batidos en cuanto a “aceptabilidad”



En cuanto a los resultados obtenidos para la aceptabilidad, se puede observar en la figura 8 que el BATIDO 205 se encuentra por encima del nivel de aceptabilidad comparado con el resto de BATIDOS por lo que se escogió a esta formulación para el suplemento final. En cuanto al orden de aprobación se encuentra:

1. BATIDO 205 - 86.1% de aceptabilidad
2. BATIDO 318 - 75.3% de aceptabilidad
3. BATIDO 469 - 73.4% de aceptabilidad
4. BATIDO 579 - 60.76% de aceptabilidad. Es rechazado no cumple con el criterio de aceptabilidad establecido.

### 3.3 Control de calidad interno de los análisis

Para el control de calidad interno se realizó un análisis de la variabilidad de los resultados obtenidos en todos los análisis. (ANEXO 15) Esto se hizo calculando el coeficiente de variación.

**Tabla 9.** Resultado análisis interno

NUTRIENTE	COEFICIENTE DE VARIACION
PROTEÍNAS	1.24%
GRASAS	4.87%
CENIZAS	3.01%
HUMEDAD	0.48%
HIERRO	3.59%
CALCIO	8.51%

Los valores correspondientes al coeficiente de variación de todos los parámetros analizados están dentro del límite de aceptación considerado de 15%.

### 3.4 Análisis microbiológico

**Tabla 10.** Resultado análisis microbiológico del suplemento nutritivo

	UNIDAD	24 HORAS	48 HORAS
Aerobios mesófilos	UFC/g	63000	75000
Coliformes totales	UFC/g	10	50
*Mohos y levaduras	UFC/g	0	0

\*Los resultados de mohos y levaduras fueron leídos hasta los 5 días, siendo el resultado de 0 UFC/g.

Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico se encuentran dentro del rango de los requisitos de la norma INEN 616:2006.

### 3.5 Aporte calórico del suplemento

**Tabla 11.** Resultado aporte calórico

NUTRIENTE	g/100g de alimento seco	ENERGÍA (Calorías)	ENERGÍA (KJ)
PROTEÍNAS	33.6	134.5	571.7
GRASAS	28.3	254.6	1046.7
CARBOHIDRATOS	28.2	112.7	478.9
<b>TOTAL</b>		501.8 Cal	2097.3 KJ



UNIVERSIDAD DE CUENCA

El aporte energético del suplemento es de 2097.3 KJ (501.8 Calorías) por cada 100 gramos del producto, lo cual nos indica que proporciona un gran aporte de calorías a nuestra dieta. El aporte calórico por porción es de 524.3 KJ (125.5 Calorías) considerando que una porción sería alrededor de 30 g.

### 3.6 Etiquetado. Cuadro de información nutricional

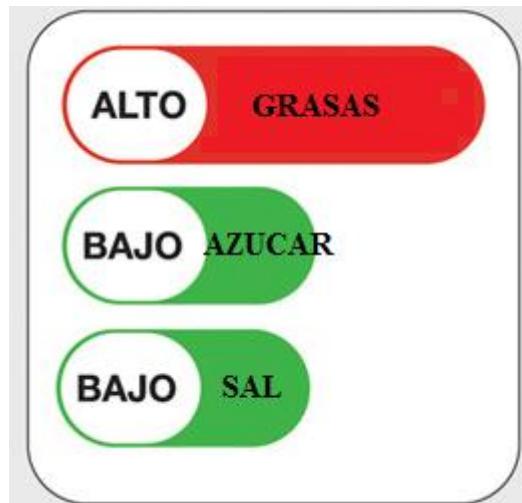
INFORMACIÓN NUTRICIONAL				
Tamaño por porción	30 g	100 g	30 g	%Valor Diario
Energía (calorías)	502 Cal	151 Cal		
Energía (KJ)	2097 KJ	629 KJ		
<b>Grasa Total</b>	28 g	8 g		12 %
<b>Carbohidratos Totales</b>	28 g	8 g		3 %
Fibra total	0 g	0 g		0 %
<b>Proteínas</b>	34 g	10 g		20 %
Calcio	8 mg	2 mg		1 %
Hierro	3 mg	1 mg		7 %

\*Los porcentajes de los valores diarios están basados en una dieta de 8380 kJ (2000 Calorías).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Según el reglamento sanitario de etiquetado de alimentos procesados para el consumo humano en el capítulo 2 artículo 9, el contenido de componentes y concentraciones permitidas nos daría como resultado el siguiente semáforo nutricional:





UNIVERSIDAD DE CUENCA  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **Conclusiones**

Mediante el presente estudio se logró brindar una nueva opción para suplementar la ingesta diaria de proteína, utilizando una fuente de proteína vegetal proveniente de un alimento propio de la región andina del Ecuador, del cual se aprovechó su gran valor nutritivo y se lo adecuó para una administración de forma sencilla, favoreciendo al uso de alimentos producidos por agricultores los cuales están a nuestro alcance.

El suplemento obtenido mediante el proceso propuesto contiene una concentración de proteína de 33.6 g/100g siendo el nutriente más abundante en este producto, que de acuerdo a la porción de consumo (30 g) cubre con un 20 % de las necesidades proteicas diarias recomendadas (60 g/día).

El aporte de una porción del suplemento preparado en cuanto a grasas y carbohidratos es de 12 % y 3 % respectivamente, de una dieta diaria de 2000 Calorías. En cuanto a micronutrientes, el suplemento aporta una cantidad regular para el organismo de hierro y Calcio, siendo la cantidad de hierro un 7 % y el calcio el 1 % de las necesidades diarias recomendadas.

El análisis microbiológico del suplemento demuestra que las buenas prácticas de manufactura se han aplicado en la elaboración del suplemento, puesto que está dentro de los límites permitidos por la norma NTE INEN. 616:2006.

En cuanto al aporte calórico, el suplemento aporta con 629 kJ (151 calorías) por cada 30 gramos del producto.

El análisis sensorial indica que al adicionar un saborizante el suplemento fue aceptado y el de mayor aceptabilidad fue el de banano, el cual se utilizó para los análisis posteriores, y para la presentación del suplemento terminado.



## **Recomendaciones**

Se recomienda realizar un estudio complementario sobre el envasado y la estabilidad del producto elaborado bajo las condiciones de este estudio.

Se podría realizar un cambio en el proceso de secado, en lugar del túnel de secado aplicar la liofilización, de esta manera disminuir la presencia de microorganismos aerobios.

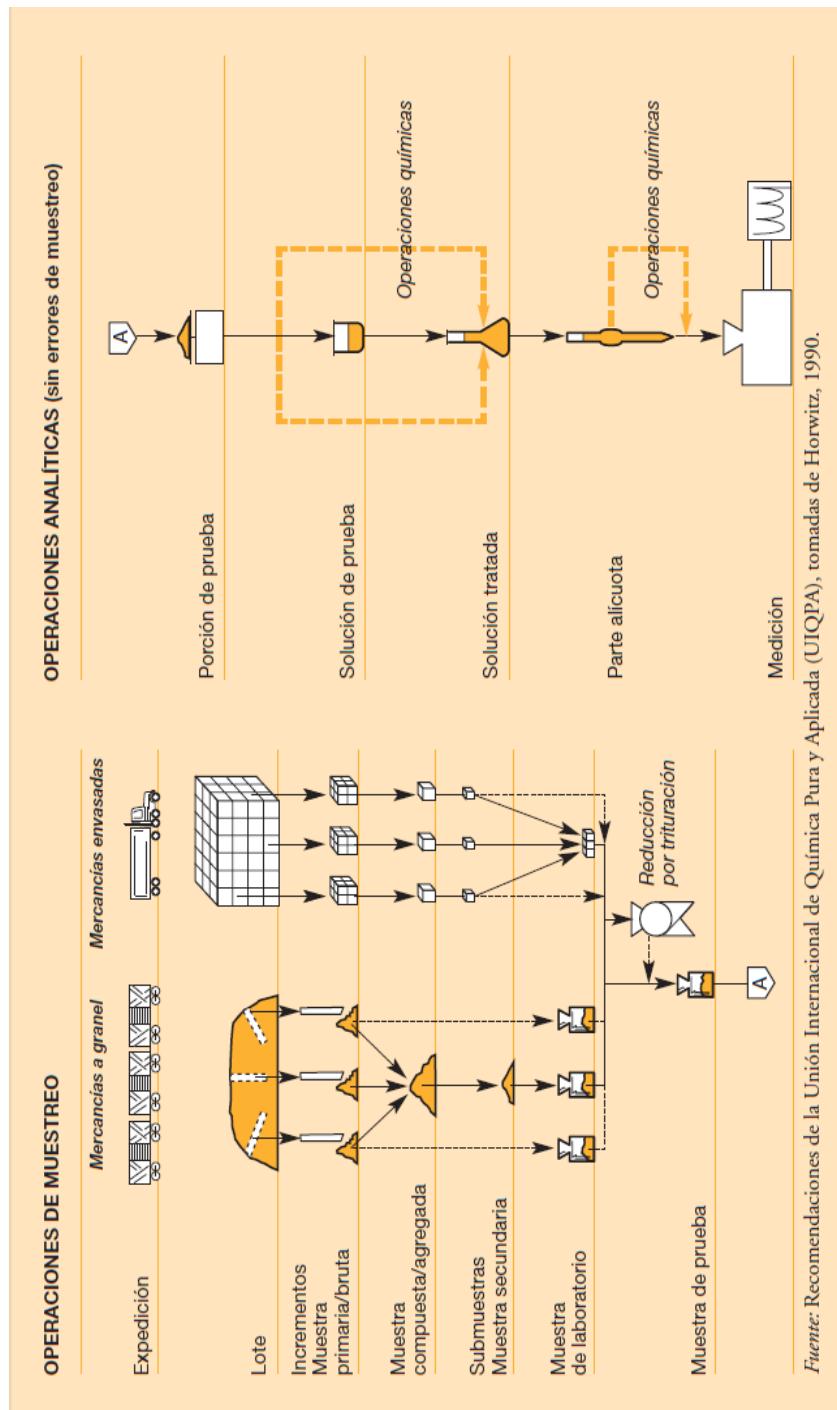
Realizar análisis de las propiedades de los alcaloides que son eliminados, puesto que según la bibliografía consultada tienen actividad hipoglicemiante y antibacteriana.

Optimizar el método de deslupinización que sea más eficiente en cuanto a tiempo, ya sea utilizando un solvente diferente o adecuar un equipo que permita el flujo continuo de agua.

Para cumplir con la norma de etiquetado de un alimento se recomienda realizar la determinación de colesterol, sodio y la diferenciación de las grasas.

## ANEXOS

(ANEXO 1) Plan de muestreo de alimentos laboratorio de alimentos y nutrición<sup>36</sup>



## (ANEXO 2) Procesamiento de la materia prima



### Recepción y Selección manual del grano

Se escoge los granos que se encuentren dañados y con alguna impureza para separarlos del lote.



### Lavado del grano

Se realiza con agua potable a temperatura ambiente con el fin de eliminar las impurezas más pequeñas.



### Pesado del grano

Se mide la masa del grano limpio y seco para el cálculo del rendimiento final.

**(ANEXO 3) Eliminación de los alcaloides**



**Hidratación del grano**

El grano se hidrata en ollas llenas de agua potable por un día.



**Cocción del grano**

Una vez hidratado el grano se somete a ebullición por una hora.



**Lavado continuo**

El grano es lavado continuamente con agua potable cambiada cada 6 horas.

#### (ANEXO 4) Procesamiento del chocho desamargado



##### **Descascarado del Chocho**

El grano es descascarado manualmente presionando las semillas y provocando así el descascarado y se separa el cotiledón de la cascara con ayuda de un cedazo, asegurando así su total eliminación.



##### **Secado del Chocho**

Se realiza en un tunel desecador de alimentos con una temperatura de 32-34°C por 10 horas.



##### **Molido del Chocho**

Este proceso se realiza en molino industrial para granos. El polvo obtenido es pasado por un cedazo obteniendo partículas homogéneas.

## (ANEXO 5) Determinación de la humedad



### Preparación de las cápsulas de porcelana

- Se introducen las capsulas lavadas en la estufa a 103°C por 15 minutos.
- Se extraen y se enfrian en un desecador durante otros 15 minutos



### Pesado de las cápsulas

- Sepesan la cápsulas limpias y secas.



### Pesado de la muestra

- Se pesa 5 gramos de muestra en la balanza analitica.



### Secado de la muestra

- Se coloca en la estufa las cápsulas con la muestra por una hora a 103°C.



### Pesada de la muestra seca

- Una vez seca la muestra se pesa en balanza anlítica.
- Se repite el proceso cuantas veces sea necesario para que el peso sea constante.

## (ANEXO 6) Determinación del contenido en materia grasa por Método de Soxhlet



### Pesado de la muestra

- Se pesa en balanza analítica 1 gramo de muestra en papel filtro.
- Luego se introduce doblada en el papel filtro a el cartucho de celulosa.



### Pesado del balón

Una vez limpio y seco se pesa el balón en balanza analítica.



### Extacción de la grasa

- Se añade 200mL de eter de petróleo y se arma el equipo para realizar 16 sifonamientos en un periodo de dos horas.



Luego se introducen los balones en la estufa a 103°C por 30 minutos y 15 minutos mas en el desecador para pesarlos finalmente y realizar los cálculos.

(ANEXO 7) Determinación de proteínas por Método de Kjeldahl



**Preparación de la muestra**

- Se tritura la muestra en un mortero si se va a trabajar con chocho seco



**Pesado de la muestra**

- Se pesa con precisión en balanza analítica de 2 a 3 gramos de muestra.



Se coloca la muestra en balón Kjeldahl

- Además se coloca 20mL de ácido sulfúrico concentrado y unos 200mg de selenio que sirve como catalizador



En la campana se calienta la hornilla y se coloca el balón agitándolo cada 30 minutos

- La digestión acaba cuando el residuo en el balón toma un color verde aceituna
- Se deja enfriar el residuo y se hace correr agua destilada por las paredes del balón



Se recoge esta mezcla en un balón de aforo de 250mL y se lava el balón Kjeldahl 3 veces

- Se afora a 250mL y se agita el balón.
- Recogemos 25mL del aforo y se coloca en el tubo destilador

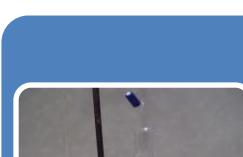


En un Erlen Meyer se coloca 10 o 20mL de ácido sulfúrico 0.1N con 10mL d agua destilada y dos o tres gotas del indicador rojo de metilo, esta solución nos sirve para la recolección del destilado y toma un color rosa



Destilación

- El tubo destilador se coloca en el destilador y se enciende, recibiendo el destilado en el Erlen Meyer.



Titulación del destilado

- Se llena una bureta con hidróxido de sodio 0.1N para titular el destilado
- Se tutula el contenido del Erlen Meyer con hidróxido de sodio 0.1N para saber cuánto ácido sulfúrico 0.1N fue consumido
- El viraje de la titulación se da cuando cambia el color del destilado de rosa a un ligero naranja

(ANEXO 8) Determinación de Cenizas totales por Calcinación



**Pesado**

- Pesar con precisión (balanza analítica) en una cápsula previamente calcinada y tarada 5 gramos de muestra homogeneizada



**Calcinación**

- Colocar en la mufla e incinerar a 550 °C por 8 horas, hasta cenizas blancas o grisáceas.



**Pesado de las cenizas**

- Enfriar la mufla y las capsulas en desecador y pesarlas

(ANEXO 9) Determinación de minerales por Absorción y Emisión Atómica

**Preparación de la muestra:**

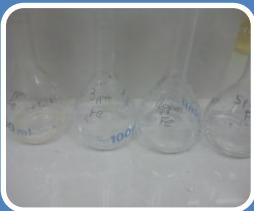
- Pesar con precisión (balanza analítica) 5 gramos de muestra en un vaso de precipitación.

**Digestión de la materia orgánica**

- Añadir 10mL de Ácido Nítrico concentrado más una cantidad similar de agua destilada.
- Calentar en la hornilla eléctrica con agitación continua, vapores rojizos son la señal del fin de este paso.



- Filtrar en embudo con papel filtro con varios lavados y recoger el filtrado en balón de aforo de 100mL.
- Aforar el filtrado a 100mL.

**Preparación de los patrones:**

- Se preparan patrones de 100ppm de hierro y calcio.
- Se toma 10mL de la solución estándar de 1000ppm de calcio y hierro y se aforan a 100mL.

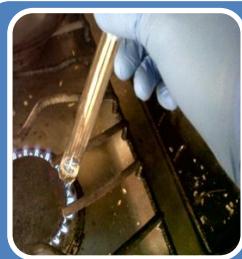
**Lectura en el Equipo:**

- se coloca la respectiva lámpara para calcio y hierro.
- Se prepara el equipo para lectura por absorción o emisión atómica para el hierro o calcio respectivamente.
- Se leen los patrones y se realiza la lectura de la muestra.

**(ANEXO 10) Determinación cuantitativa de los alcaloides por reacción de Dragendorff**



- En un tubo de ensayo se coloca de 1 a 2mL del solvente.



- Se acidifica la muestra con una gota de Ácido Clorhídrico concentrado.
- A la solución acidificada se le calienta hasta ligera ebullición.

- Luego se coloca de 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observa la reacción.



## (ANEXO 11) Análisis Microbiológico



### Preparación y Esterilización del material

- Preparamos el agua de peptona al 0,1% en agua destilada
- Se esteriliza el material.



### Preparación de la muestra

- Se pesa 10 gramos de muestra y se coloca en cada shaker con los 90ml de agua de peptona estéril y se homogeniza
- Se realizan las diluciones requeridas en tubos.



### Rotulación y Siembra

- Se rotulan las placas petrifilm y se procede a sembrar cada dilución con 1mL de muestra en cada placa.

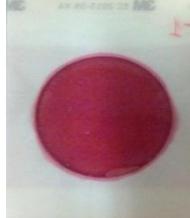


Se colocan las placas en la estufa a una determinada temperatura, la placa para Mohos y Levaduras a 22°C y el resto de placas a 35°C.



## RESULTADOS

24 HORAS:

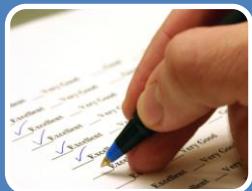
MICROORGANISMO	IMAGEN	RESULTADO
Coliformes Totales		10 UFC/g
Aerobios Mesofilos		63000 UFC/g
Mohos y Levaduras		0 UFC/g



48 HORAS:

MICROORGANISMO	IMAGEN	RESULTADO
Coliformes Totales		50 UFC/g
Aerobios Mesófilos		75000 UFC/g
Mohos y Levaduras		0 UFC/g

## (ANEXO 12) Procedimiento para la degustación del suplemento



### Recepción de Información

- Preguntar a cada panelista la hora de la última comida



### Ubicación de los panelistas

- Ubicar a los panelistas en la habitación de forma individual con el fin de minimizar problemas de distracción y generar un ambiente propicio para la degustación.



### Asignación de información y Degustación

- Se da información a los panelistas acerca del producto, la forma de probarlo y calificarlo.
- Se procede a la degustación.



### Calificación del producto

- el catador procede a calificar el producto anotando a su parecer en cada uno de los caracteres organolépticos que presenta el cuestionario.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

## (ANEXO 13) Cuestionario para análisis sensorial

## **PRUEBA SENSORIAL DE SUPLEMENTO ALIMENTICIO A PARTIR DE CHOCHO “*Lupinus mutabilis*”**

<b>Nombre del degustador:</b>	
<b>Código:</b>	<b>Fecha:</b>
<b>Sexo:</b>	<b>Hora:</b>

## Instrucciones:

Sírvase a degustar los batidos de los suplementos proteicos que se le presenta y evalúe cada una de las siguientes características organolépticas. Escriba el número que a su parecer le corresponde a cada característica de acuerdo a la siguiente escala:

## 1= Me Disgusta Mucho

2 = Me Disgusta  
Me Disgusta

3= Ni Me Gusta Ni

4= Me Gusta

5= Me Gusta Mucho

CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS	ALTERNATIVAS	BATIDO 579	BATIDO 205	BATIDO 318	BATIDO 469
COLOR	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

AROMA	Me Disgusta Mucho			
	Me Disgusta Moderadamente			
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta			
	Me Gusta Moderadamente			
	Me Gusta Mucho			



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INTENSIDAD DEL AROMA	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

SABOR	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

INTENSIDAD DEL SABOR	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

TEXTURA	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

ASPECTO GENERAL	Me Disgusta Mucho				
	Me Disgusta Moderadamente				
	Ni Me Gusta Ni Me Disgusta				
	Me Gusta Moderadamente				
	Me Gusta Mucho				

**MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**



UNIVERSIDAD DE CUENCA

**(ANEXO 14) NTE INEN 1334-2:2011 Segunda revisión**



## (ANEXO 15) Tabla de resultados obtenidos

ANÁLISIS	DATOS		
Proteína	33,9062%P/P	<b>Media:</b>	33,63566667
	33,1518%P/P	<b>Desviación estándar:</b>	0,420015682
	33,849%P/P	<b>Coeficiente de Variación:</b>	1,248721146
Grasa	26,7799%P/P	<b>Media:</b>	28,2951667
	29,4817%P/P	<b>Desviación estándar:</b>	1,38057235
	28,6239%P/P	<b>Coeficiente de Variación:</b>	4,87918084
Humedad	8,18%P/P	<b>Media:</b>	8,18
	8,22%P/P	<b>Desviación estándar:</b>	0,04
	8,14%P/P	<b>Coeficiente de Variación:</b>	0,48899756
Cenizas	1,6597%P/P	<b>Media:</b>	1,71216667
	1,7628%P/P	<b>Desviación estándar:</b>	0,05157444
	1,714%P/P	<b>Coeficiente de Variación:</b>	3,01223272
Minerales:			
Calcio		<b>Media</b>	7,8343
	8,3058 mg/100g	<b>Desviación estándar:</b>	0,66680169
	7,3628 mg/100g	<b>Coeficiente de Variación</b>	8,51131173
Hierro		<b>Media</b>	3,47125
	3,5596 mg/100g	<b>Desviación estándar</b>	0,12494577
	3,3829 mg/100g	<b>Coeficiente de Variación</b>	3,59944597
Carbohidratos	28,177%P/P		

## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> INIAP (2013), Propiedades nutritivas del chocho. Extraido el 15 Mayo 2014, de <http://www.agricultura.gob.ec/iniap-investigo-propiedades-nutritivas-del-chocho-alternativa-para-una-mejor-alimentacion/>.
- <sup>2</sup> Gutiérrez Urrutia, 2010, Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*), Abancay, Perú.
- <sup>3</sup> Rodríguez Basantes, A. I. (2009). "Evaluacion "in vitro" de la actividad antimicrobiana de los alcaloides del agua de coccion del proceso de desamargado del chocho". Tesis, Riobamba.
- <sup>4</sup> Caicedo V., & Peralta, E. (2001). Estación experimental santa catalina programa nacional de leguminosas. (E. Peralta, Ed.) Boletín técnico (103), 1-2.
- <sup>5</sup> Gutiérrez Urrutia, 2010, Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*), Abancay, Perú.
- <sup>6</sup> Proyecto norma andina (2011). Grano Amargo de Chocho. Requisitos. Norma andina. Extraido el 16 de mayo del 2014, de [http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Norma%20Andina%20Chocho%20\(1\).pdf](http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Norma%20Andina%20Chocho%20(1).pdf)
- <sup>7</sup> Villacres, E., Peralta, E., & Álvarez, M. (2003). Programa Nacional de leguminosas y granos Andinos. Chochos en su punto , 3.
- <sup>8</sup> Morón, C. (2005). Organización de la Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. Extraído el 15 de Mayo de 2014, de FAO: [http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro07/Cap3\\_3.htm](http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro07/Cap3_3.htm)
- <sup>9</sup> Villacres, E., Peralta, E., Cuadrado, L., Revelo, J., Abdo, S., & Aldáz, R. (2009). Propiedades y Aplicaciones de los Alcaloides del Chocho. INIAP. Quito: Grafistas.
- <sup>10</sup> Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. (R. Pinzón, Ed.) Bogotá, Colombia: Quebecor-Impreandes.
- <sup>11</sup> Caicedo, C., Peralta, E., Villacres, E., & Rivera, M. (2001). Pos cosecha y Mercado del Chocho (*Lupinus mutabilis*) en Ecuador. INIAP, Quito.

- <sup>12</sup> Prieto, M. (2010). Los suplementos alimenticios. Revista Digital Innovación y Experiencias Educativas, (36).
- <sup>13</sup> National center for complementary and alternative medicine. (2007). Uso adecuado de los suplementos dietéticos. Extraído el 15 de Mayo de 2014, de <http://nccam.nih.gov/node/3869#jump3>
- <sup>14</sup> ANAISA. (2013). Legislación sanitaria sobre suplementos alimenticios. Asociacion, México D.F.
- <sup>15</sup> Bousoño García, C. (2012). Suplementación nutricional en la infancia. Universidad de Oviedo, Central de Asturias, Oviedo.
- <sup>16</sup> Ibañez Moya, F., & Barcina Angulo, y. (2001). Análisis Sensorial de los alimentos métodos y aplicaciones. Barcelona, España: Springer, 1-2
- <sup>17</sup> Bello Gutiérrez, J. (2000). CIENCIA BROMATOLÓGICA. Madrid, España: Diaz de Santos.
- <sup>18</sup> Fromerty. (2009). Métodos de conservación de alimentos. Extraído el 28 de Agosto de 2014, de <http://es.scribd.com/doc/24240800/metodos-de-conservacion-de-alimentos>
- <sup>19</sup> Departamento de Agricultura de la FAO. (2013). Secado de los granos. Extraído el 23 de Agosto de 2014, de <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027S05.HTM#III.%20Secado%20de%20los%20granos>
- <sup>20</sup> Departamento de Agricultura de la FAO. (2013). Parámetros del secado de granos. Extraído el 24 de Agosto de 2014, de <http://www.fao.org/docrep/x5059s/x5059S02.htm#Temperatura%20de%20secado>
- <sup>21</sup> Gil Hernández, Á. (2010). Tratado de Nutrición. Madrid, España: Médica Panamericana.
- <sup>22</sup> Bello Gutiérrez, J. (2000). Ciencia Bromatológica. Madrid , España: Diaz de Santos, 127-130.
- <sup>23</sup> FAO. (1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Extraído el 05 de Noviembre de 2014, de <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s16.htm>

- <sup>24</sup> Universidad Cesar Vallejo. (2008). Método soxhlet en alimentos. Extraído el 05 de noviembre de 2014, de: <http://es.slideshare.net/bibliojengibre/mtodo-soxhlet-en-alimentos>
- <sup>25</sup> FAO. (1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Extraído el 05 de noviembre de 2014, de: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s17.htm>
- <sup>26</sup> Caravaca, F., Castel, J., Guzman, J., Delgado, M., Mena, Y., Alcalde, M., y otros. (2003). Bases de la producción animal. Sevilla, España.
- <sup>27</sup> FAO. (1993). Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Extraído el 07 de noviembre de 2014, de: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab489s/ab489s03.htm>
- <sup>28</sup> FAO. (marzo de 1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Extraído de: <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s22.htm>
- <sup>29</sup> Kuklinski, C. (2000). FARMACOGNOSIA. Barcelona, España: OMEGA S.A.
- <sup>30</sup> 3M. (2014). Seguridad de los alimentos. Extraído el 07 de Noviembre de 2014, de Análisis de Microorganismos Indicadores: [http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es\\_ES/FoodSafetyEU/FoodSafety/Pr](http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es_ES/FoodSafetyEU/FoodSafety/Pr)
- <sup>31</sup> Sancho, J., Bota, E., & de Castro, J. (2007). Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Barcelona, España: Universitat de Barcelona.
- <sup>32</sup> Rámirez, J. (2012). Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Extraído el 10 de Febrero de 2014, de [http://www.researchgate.net/publication/257890512\\_Anlisis\\_sensorial\\_pruebas\\_orientadas\\_al\\_consumidor](http://www.researchgate.net/publication/257890512_Anlisis_sensorial_pruebas_orientadas_al_consumidor)
- <sup>33</sup> EUROPA.EU. (s.f.). Etiquetado y embalaje de los productos. Extraído el 25 de diciembre de 2014, de [http://europa.eu/legislation\\_summaries/consumers/product\\_labelling\\_and\\_packaging/index\\_es.htm](http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/product_labelling_and_packaging/index_es.htm)
- <sup>34</sup> Universidad Michoacana de San José de Hidalgo. (2008). Coeficiente de variación. Extraído el 25 de diciembre de 2014, de <http://dieumsnh.qfb.umich.mx/estadistica/coefvariacion.htm>



---

<sup>35</sup> Proyecto norma andina (2011). Grano Amargo de Chocho. Requisitos. Norma andina. Extraido el 16 de mayo del 2014, de [http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Norma%20Andina%20Chocho%20\(1\).pdf](http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Norma%20Andina%20Chocho%20(1).pdf)

<sup>36</sup> Greenfield, H., & Southgate, D. (2003). Datos de composición de alimentos. En B. Burlingame (Ed.). Roma: Elsevier Science Publishers.