



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**"EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y SU RELACIÓN
CON LA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES, PROTEÍNA Y LISINA
EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA
Y NO PROCESADA"**

TESIS DE GRADO
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

PRESENTADO POR:
FERNANDA ISABEL TAMAYO BARZOLA

RIOBAMBA – ECUADOR

2011

“Fui a los bosques porque quería vivir a conciencia, quería vivir a fondo y extraer todo el meollo a la vida, dejar de lado todo lo que no fuera la vida para no descubrir en el momento de la muerte que no había vivido.

..... Coged las rosas mientras podáis, veloz el tiempo vuela, la misma flor que hoy admiráis mañana estará muerta. Carpe Diem”

DEDICATORIA

*Con mucho cariño a quienes Amo inmensamente,
mis viejitos Fausto y Rosario
y a mis hermanos Diana, Carolina y Ariel.*

AGRADECIMIENTO

Mi sincera gratitud a todas aquellas personas que de una u otra forma apoyaron en la realización de este trabajo:

A Dios por su guía e iluminación en el camino de mi vida.

A mis padres y hermanos por su apoyo tanto moral como económico, en especial a mi viejita quién siempre estuvo pendiente de que nunca decaiga ante las adversidades.

A la Ingeniera Elena Villacrés, investigadora del INIAP, mi sincera gratitud por su valioso apoyo y guía durante el desarrollo de este proyecto.

A la Doctora Olga Lucero, directora de tesis, por su valiosa colaboración y asesoramiento quien siempre con sus palabras me dio impulso para seguir con este trabajo.

Al Doctor Carlos Donoso, colaborador de tesis, por su valioso apoyo, colaboración y sobre todo comprensión para la culminación del presente trabajo.

A la Doctora Lourdes Cuadrado, quien fue mi vínculo para la realización de este trabajo y apoyo en todo momento.

Al departamento de Nutrición y Calidad quienes de una u otra forma colaboraron en el desarrollo de esta tesis: Iván, Dr. Armando, Carmita, Bladymir y Rocio.

Al Programa de Cereales, quienes fueron uno de los promotores y colaboradores de este trabajo: Ing. Esteban Falconi, Ing. Miguel Rivadeneira, Don Segundito Abad y Don Segundito Guaynasha.

A quienes siempre recordare con mucho cariño, a mis amigos CIAT, gracias por la oportunidad y colaboración que me brindaron y ahora forman parte importante de este trabajo, Darwin, Helena, Dayron, Ingrid, Carolina, Marlene, Justine, Jhon Larry, Andrés, Teresa y Jorge.

Lo mejor que encontré durante el desarrollo de esta tesis fue la amistad sincera de mis compañeros y buenos amigos INIAP, Andre, Vicky, Maribel, Cachito, Dany, Gaby, Jorge, Priscila, Mónica, Luis, Raúl, Willy y Carmita.

A quien fue mi mejor compañía durante mi estancia en Cali, ahora mi gran amiga y a quien siempre extrañare Lau.

De igual manera a quienes me brindaron su amistad desinteresada durante mi paso por Cali siempre los recordare con mucho cariño, Lu, Jhona, Dianis, al primo David y a los tíos Nidia y Flavio.

Gracias a todos, ya que sea de cualquier en la forma en la que participaron durante esta fase, para mí llegan a ser parte importante de mi vida.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**FACULTAD DE CIENCIAS****ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y SU RELACIÓN CON LA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES, PROTEÍNA Y LISINA EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA”, de responsabilidad de la señorita egresada Fernanda Isabel Tamayo Barzola, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Olga Lucero
DIRECTOR(A) DE TESIS

Dr. Carlos Donoso
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dr(a).
MIEMBRO DE TRIBUNAL

NOTA DE TESIS ESCRITA _____

Yo, Fernanda Isabel Tamayo Barzola, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO y al INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIAP)

FERNANDA ISABEL TAMAYO BARZOLA

ABREVIATURAS

°C = Grados Celsius

AF = Ácido fítico

AOAC = Asociación Oficial de Químicos Analíticos

BD = Biodisponibilidad

Ca = Calcio

CIAT = Centro Internacional de Agricultura Tropical

Cu = Cobre

EA UV-VIS = Espectrofotometría de Absorción Ultravioleta Visible

EAA = Espectrometría de Absorción Atómica

Fe = Hierro

Fe-Fz3 = Complejo Hierro- Ferrozina

FeH= Hierro Hémico

FeNH= Hierro No-Hémico

Fz= Ferrozina

g = Gramos

HEPES = Ácido 4-(2-Hydroxietil)-1-piperazinetanosulfónico

INIAP = Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

IP₆ = Mioinositolhexafosfórico

K = Potasio

L = Litros

M = Molaridad

Mg = Magnesio

Mn = Manganeseo

m.s.n.m. = Metros sobre el nivel del mar

mg = Miligramos

mL = Mililitros

N = Normalidad

Na = Sodio

P = Fósforo

PIPES = Ácido 1,4-piperazindietanosulfónico

ppm. = Partes por millón

RPPS = Reducing Protein precipitant solution

t = tonelada

uL = Microlitros

Zn = Zinc

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

| | | |
|-----------|---|----------|
| 1. | MARCOTEÓRICO..... | 3 |
| 1.1 | CEBADA (<i>Hordeumvulgare</i>)..... | 3 |
| 1.1.1 | Descripción botánica..... | 3 |
| 1.1.1.1 | Raíz..... | 4 |
| 1.1.1.2 | Tallo..... | 5 |
| 1.1.1.3 | Hojas..... | 5 |
| 1.1.1.4 | Espiga..... | 5 |
| 1.1.1.5 | Semilla..... | 6 |
| 1.1.2 | Origen..... | 6 |
| 1.1.3 | Cultivo..... | 7 |
| 1.1.4 | Composición química y valor nutritivo..... | 10 |
| 1.1.5 | Usos de la Cebada..... | 12 |
| 1.1.6 | Beneficios..... | 13 |
| 1.2 | Nutrientes..... | 15 |
| 1.2.1 | Componentes indeseables de los alimentos..... | 15 |
| 1.2.1.1 | Componentes tóxicos..... | 16 |
| 1.2.1.2 | Antinutrientes..... | 17 |
| 1.2.1.2.1 | Factores de flatulencia..... | 17 |
| 1.2.1.2.2 | Inhibidores de enzimas..... | 18 |
| 1.2.1.2.3 | Antivitaminas..... | 18 |
| 1.2.1.2.4 | Antiminerales..... | 19 |
| 1.2.1.2.5 | Antinutrientes polivalentes..... | 20 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1.3 | Digestión..... | 21 |
| 1.3.1 | Proceso digestivo..... | 21 |
| 1.4 | Ácido fítico..... | 24 |
| 1.4.1 | Estructura química y propiedades..... | 24 |
| 1.4.2 | Distribución y localización..... | 27 |
| 1.4.3 | Métodos de determinación del ácido fítico..... | 27 |
| 1.4.3.1 | Métodos cualitativos..... | 28 |
| 1.4.3.2 | Métodos cuantitativos..... | 28 |
| 1.4.3.2.1 | Método de precipitación..... | 29 |
| 1.4.3.2.2 | Métodos de intercambio iónico..... | 29 |
| 1.4.3.2.3 | Métodos cromatográficos..... | 31 |
| 1.4.4 | Efectos del ácido fítico en los nutrientes..... | 32 |
| 1.4.4.1 | Biodisponibilidad..... | 33 |
| 1.4.4.2 | Efectos en la biodisponibilidad mineral..... | 33 |
| 1.4.4.2.1 | Métodos de evaluación de la biodisponibilidad mineral..... | 35 |
| 1.4.4.3 | Efectos en la biodisponibilidad de proteína..... | 43 |
| 1.4.4.3.1 | Digestibilidad <i>in vitro</i> de la proteína por el método Hsu..... | 44 |
| 1.4.4.4 | Efectos farmacológicos..... | 45 |
| 1.4.4.5 | Efecto de los procesos..... | 46 |
| 1.4.4.5.1 | Procesos..... | 46 |
| 2. | PARTE EXPERIMENTAL..... | 50 |
| 2.1 | Localización del experimento..... | 50 |
| 2.2 | Obtención y preparación de las muestras..... | 50 |
| 2.2.1 | Cuantificación de fitatos totales por colorimetría..... | 50 |
| 2.2.2 | Determinación de la biodisponibilidad <i>in vitro</i> de minerales..... | 54 |
| 2.2.3 | Determinación de la biodisponibilidad <i>in vitro</i> de hierro biodisponible por colorimetría | 57 |
| 2.2.4 | Determinación de la digestibilidad <i>in vitro</i> de la proteína por el método de Hsu..... | 61 |
| 2.3 | Selección de muestras de acuerdo al contenido de ácido fítico y a su disponibilidad para la aplicación de procesos..... | 65 |
| 2.3.1 | Escarificado..... | 65 |
| 2.3.2 | Laminado..... | 65 |
| 2.3.3 | Tostado..... | 66 |
| 2.3.4 | Expandido..... | 66 |
| 2.3.5 | Malteado..... | 68 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 70 |
| 3.1 | Determinación de la variabilidad del contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada..... | 70 |
| 3.2 | Evaluación del efecto de varios procesos sobre el contenido de ácido fítico, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada..... | 72 |
| 3.3 | Determinación de la biodisponibilidad de minerales en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 75 |
| 3.4 | Determinación del contenido de proteína y lisina disponible, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada, procesada y no procesada..... | 87 |
| 4. | CONCLUSIONES..... | 93 |
| 5. | RECOMENDACIONES..... | 95 |
| 6. | RESUMEN Y SUMMARY..... | 96 |
| 7. | BIBLIOGRAFÍA..... | 99 |
| 8. | ANEXOS..... | 113 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-------------|---|----|
| TABLA No. 1 | Composición de la cebada en base seca | 11 |
| TABLA No. 2 | Composición del grano de cebada..... | 12 |
| TABLA No. 3 | Composición de la paja de cebada..... | 12 |
| TABLA No.4 | Principales componentes tóxicos..... | 16 |
| TABLA No.5 | Compuestos antivitaminicos..... | 19 |
| TABLA No. 6 | Compuestos antiminerales..... | 19 |
| TABLA No. 7 | Compuestos polivalentes antinutritivos..... | 20 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | |
|------------|--|----|
| CUADRO 1. | Análisis de varianza para el contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada nativas | 70 |
| CUADRO 2. | Prueba de tukey al 5% para el contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada..... | 71 |
| CUADRO 3. | Análisis de varianza para el contenido de ácido fítico en varios genotipos de cebada procesados..... | 72 |
| CUADRO 4. | Prueba de tukey al 5% para el contenido de ácido fítico en la interacción genotipo-proceso..... | 73 |
| CUADRO 5. | Análisis de varianza para la biodisponibilidad de calcio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 75 |
| CUADRO 6. | Prueba de tukey al 5% para la biodisponibilidad del calcio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 76 |
| CUADRO 7. | Análisis de varianza para la biodisponibilidad de magnesio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 78 |
| CUADRO 8. | Prueba de tukey al 5% para la biodisponibilidad de magnesio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 79 |
| CUADRO 9. | Análisis de varianza para la biodisponibilidad del potasio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 81 |
| CUADRO 10. | Prueba de tukey al 5% para la biodisponibilidad de potasio en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 81 |
| CUADRO 11. | Análisis de varianza para la biodisponibilidad de fosforo en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 83 |
| CUADRO 12. | Prueba de tukey al 5% para la biodisponibilidad de fosforo en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 84 |
| CUADRO 13. | Análisis de varianza para la biodisponibilidad de la proteína en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 87 |
| CUADRO 14. | Prueba de tukey al 5% para la proteína disponible en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada... | 88 |
| CUADRO 15. | Análisis de varianza para lisina disponible en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada..... | 90 |
| CUADRO 16. | Prueba de tukey al 5% para la lisina disponible en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada... | 91 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| FIGURA 1. | Planta de cebada..... | 4 |
| FIGURA 2. | Espiga de cebada..... | 5 |
| FIGURA 3. | Estructura del grano de cebada..... | 6 |
| FIGURA 4. | Estructura del mio-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexafosfórico..... | 25 |
| FIGURA 5. | Estructura química del mio-inositol, ácido fítico y fitatos..... | 26 |
| FIGURA 6. | Estructura de la ferrozina..... | 38 |
| FIGURA 7. | Complejo formado entre ferrozina y fe (II)..... | 39 |
| FIGURA 8. | Espectro de absorción del complejo fe-fz ₃ | 39 |
| FIGURA 9. | Diseño óptico de espectrofotometría vertical..... | 41 |
| FIGURA 10. | Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.... | 43 |
| FIGURA 11. | Interacción del AF con proteínas y minerales..... | 44 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | | |
|------------|---|----|
| GRÁFICO 1. | Efecto de la aplicación de varios procesos en el contenido de ácido fítico de varios genotipos de cebada..... | 74 |
| GRÁFICO 2. | Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del calcio en genotipos de cebada..... | 77 |
| GRÁFICO 3. | Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del magnesio en genotipos de cebada procesada y no procesada.... | 80 |
| GRÁFICO 4 | Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del potasio en genotipos de cebada procesada y no procesada..... | 82 |
| GRÁFICO 5. | Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del fósforo en genotipos de cebada procesada y no procesada..... | 85 |
| GRÁFICO 6. | Efecto del procesamiento sobre el contenido de proteína disponible en varios genotipos de cebada..... | 89 |
| GRÁFICO 7. | Porcentaje de lisina biodisponible en función del proceso aplicado..... | 92 |

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

| | | |
|---------------|-----------------------------------|----|
| FOTOGRAFÍA 1. | Cultivo de cebada..... | 3 |
| FOTOGRAFÍA 2. | Expansor de granos del iniap..... | 49 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | | |
|-----------|--|-----|
| ANEXO 1. | Esquema del ensayo de cuantificación de fitatos totales por colorimetría..... | 113 |
| ANEXO 2. | Esquema del ensayo de determinación de biodisponibilidad “in vitro” de minerales por absorción atómica..... | 115 |
| ANEXO 3. | Esquema del ensayo de determinación de biodisponibilidad “in vitro” de hierro y cuantificación por colorimetría..... | 116 |
| ANEXO 4. | Esquema del ensayo de determinación de biodisponibilidad “in vitro” de proteína y cuantificación por colorimetría por el método Hsu..... | 117 |
| ANEXO 5. | Proceso de escarificación..... | 118 |
| ANEXO 6. | Proceso de laminado..... | 119 |
| ANEXO 7. | Proceso de tostado..... | 120 |
| ANEXO 8. | Proceso de malteado..... | 121 |
| ANEXO 9. | Proceso de expansión..... | 122 |
| ANEXO 10. | Porcentaje de AF de las 174 líneas y/o variedades avanzadas.... | 123 |
| ANEXO 11. | Porcentajes de proteína total y digestibilidad de proteína..... | 132 |
| ANEXO 12. | Diseño experimental aplicado para el análisis estadístico. | 133 |

INTRODUCCIÓN

En Ecuador, según los datos del Tercer Censo Nacional Agropecuario, la superficie dedicada al cultivo de la cebada es de 48.874 ha, distribuidas en todas las provincias de la Sierra. Las provincias con mayor área sembrada son Chimborazo, Cotopaxi, Cañar y Pichincha (32).

La cebada es el cuarto cereal más importante en términos de producción mundial de cereales, después del trigo, arroz y maíz. En Ecuador, el cultivo tiene una gran importancia social en las áreas rurales, constituyendo uno de los cereales ideales para su consumo. Sin embargo, este cereal, al igual que otros alimentos de origen vegetal, contiene una serie de sustancias denominadas factores antinutricionales, capaces de disminuir la disponibilidad de los nutrientes indispensables. A este grupo de sustancias pertenece el ácido fítico (AF) o ácido mio-inositolhexafosfórico (IP_6) que se encuentra en los cereales y leguminosas y tiene la capacidad de reducir la biodisponibilidad de proteínas y minerales. En cereales y leguminosas constituye aproximadamente entre el 1 y 2 % del peso de la semilla, incluso puede alcanzar el 3 a 6 % en algunos granos. En cuanto a su localización en las leguminosas, este ácido está distribuido de manera uniforme en el cotiledón y asociado a estructuras proteínicas. En los cereales se encuentra en las capas externas como aleurona y en el germen, en forma de subestructuras cristalinas en los cuerpos proteínicos. Debido a que la molécula de ácido fítico contiene seis grupos fosfato con carga, es un excelente agente quelante que forma complejos con cationes minerales y proteínas (57).

En los cereales una parte importante del fósforo mineral se encuentra formando el ácido fítico, cuyas sales de calcio y magnesio constituyen la fitina. Entre el 15 y el 45 % del fósforo de la harina de trigo es fitínico. Los porcentajes para el arroz elaborado, el salvado de trigo y el salvado de arroz son, respectivamente, 40, 82-97 y 90. El fósforo de los fitatos de calcio y magnesio insolubles es mal asimilado por el organismo humano y adicionalmente el ácido fítico se combina con numerosos iones disminuyendo drásticamente la asimilación de los mismos. Así, en los cereales, solo el 38-65 % del cinc presente es aprovechado por el organismo, frente al 79-95 % del contenido en los

productos animales. También la fitina disminuye la asimilación de calcio, magnesio, hierro, cobre y otros iones (50).

Newman, 1972, sugiere que un incremento en el fósforo inorgánico y/o proteico de la cebada podría realzar su valor alimenticio para la nutrición humana, considerando que este mineral junto con el calcio, representan cerca del 75 % de los elementos minerales que se encuentran en el cuerpo y ambos llevan a cabo varias funciones esenciales. De aquí que, el cuerpo debe recibir un suministro suficiente de cada uno de ellos para conservarse saludable (18).

Adicionalmente varios procesos tecnológicos pueden activar a las fitasa enzimas encargadas de hidrolizar el ácido fítico, liberando el fosfato e incrementando la concentración de fósforo, como ocurre en la elaboración del pan de trigo y en la fermentación sólida de la soya. Por esta razón la actividad enzimática resulta importante ya que convierte un producto desventajoso en inositol (una vitamina) y nutrientes. Existe un cierto número de semillas con actividad fitásica propia, particularmente dentro del grupo de los cereales (8, 18, 40).

Este hecho ha motivado al estudio del ácido fítico en cebada con el fin de evaluar su efecto sobre los nutrientes, principalmente las proteínas y minerales; determinando el aporte nutricional efectivo de este cereal y su seguridad para el consumo humano, debido a la importancia que actualmente existe por parte de las industrias alimentarias, la agroindustria, los consumidores y el Gobierno Nacional, de expandir los cultivos y obtener alimentos de calidad.

Hoy en día la instancia del sector agrícola de algunas comunidades ecuatorianas en la mejora de los cultivos existentes ha hecho que el tema de calidad no se pueda obviar ya que es un producto esencialmente de consumo humano. Es por ello que la creciente demanda de productos ricos nutricionalmente crea la necesidad de investigación, sobre todo en aplicar nuevas tecnologías que ayuden a mejorar la biodisponibilidad mineral

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 CEBADA (*Hordeumvulgare*)



FOTOGRAFÍA 1. CULTIVO DE CEBADA, *Hordeumvulgare*

La **cebada**(fotografía 1) es una planta monocotiledónea anual perteneciente a la familia de las poáceas gramíneas, a su vez, es un cereal de gran importancia tanto para animales como para humanos y actualmente el quinto cereal más cultivado en el mundo (92).

1.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Pooideae

Tribu: Triticeae

Género: *Hordeum*

Especie: *H. vulgare*(92).

La cebada está representada principalmente por dos especies cultivadas: *Hordeumdistichon* L., que se emplea para la elaboración de la cerveza, y *Hordeumhexastichon* L., que se usa como forraje para alimentación animal; ambas especies se pueden agrupar bajo el nombre de *Hordeumvulgare* L. ssp.*vulgare* (92).

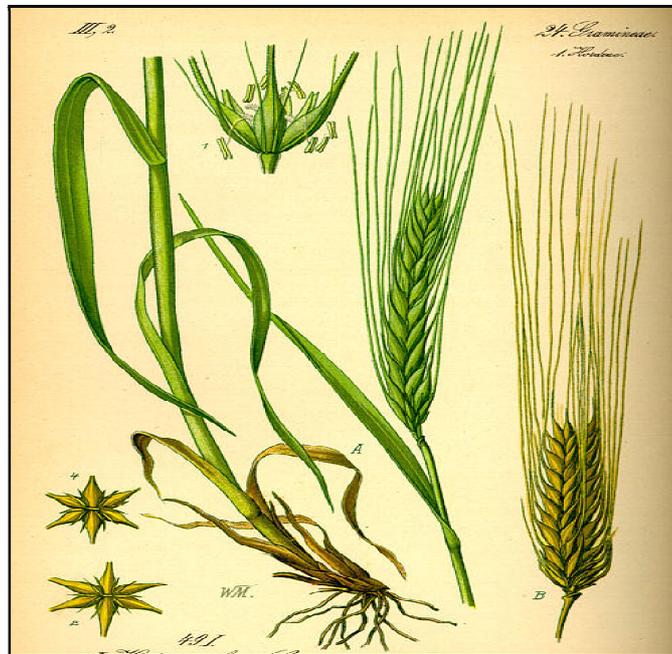


FIGURA 1. PLANTA DE CEBADA, *Hordeumvulgare*
FUENTE: www.mejoravegetal.com

1.1.1.1 Raíz

La **raíz** de la planta de cebada es fasciculada y en ella se pueden identificar raíces primarias y secundarias. Las raíces primarias se forman por el crecimiento de la radícula y desaparecen en la planta adulta, época en la cual se desarrollan las raíces secundarias desde la base del tallo con diversas ramificaciones (figura 1). (92).

1.1.1.2 Tallo

El **tallo** de la cebada es una caña hueca que presenta de siete a ocho entrenudos, separados por diafragmas nudosos. Los entrenudos son más largos a medida que el tallo crece desde la región basal. El número de tallos en cada planta es un número variable; cada uno de los cuales presenta una espiga (figura 1) (92).

1.1.1.3 Hojas

Las **hojas** están conformadas por la vaina basal y la lámina, las cuales están unidas por la lígula y presentan dos prolongaciones membranosas llamadas aurículas. Las hojas se encuentran insertadas a los nudos del tallo por un collar o pulvinus que es un abultamiento en la base de la hoja (figura 1) (92).

1.1.1.4 Espiga

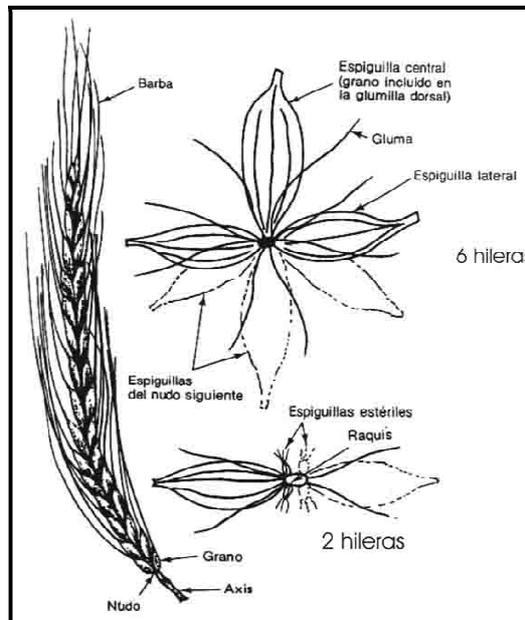


FIGURA 2. ESPIGA DE CEBADA.
FUENTE: www.cervezadeargentina.com (77)

Su **espiga** es la inflorescencia de la planta, se considera una prolongación del tallo, la cual es similar a la de las demás plantas gramíneas. La función protectora es desempeñada por las glumas y las páleas (figura 2) (92).

1.1.1.5 Semilla

La **semilla o grano** de cebada es de forma ahusada, más grueso en el centro y disminuyendo hacia los extremos (figura 3). La cáscara de la cebada (en los tipos vestidos), protege el grano contra los depredadores y es de utilidad en los procesos de malteado y cervecería. Representa un 13% del peso del grano oscilando de acuerdo al tipo, variedad del grano y latitud de plantación (92).

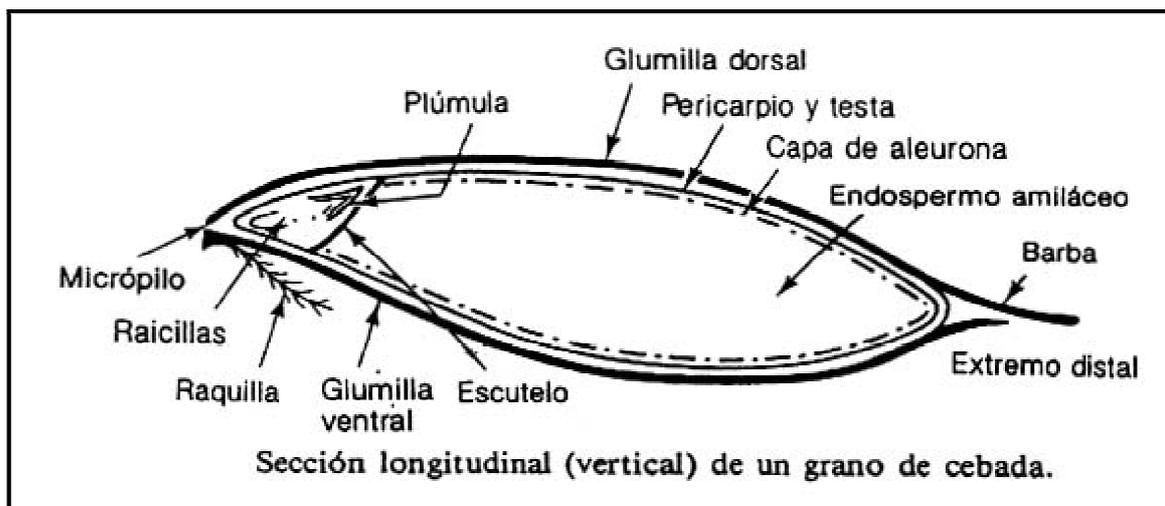


FIGURA 3. ESTRUCTURA DEL GRANO DE CEBADA
FUENTE: www.cervezadeargentina.com(77)

1.1.2 ORIGEN

Su cultivo se conoce desde tiempos remotos y se supone que procede de dos centros de origen situados en el Sudeste de Asia y África septentrional. Se cree que fue una de las primeras plantas domesticadas al comienzo de la agricultura (88).

En excavaciones arqueológicas realizadas en el valle del Nilo se descubrieron restos de cebada, en torno a los 15.000 años de antigüedad, además los descubrimientos también indican el uso muy temprano del grano de cebada molido (88).

1.1.3 CULTIVO

1.1.3.1 Localización geográfica

En el Ecuador la cebada se cultiva en la zona interandina. Las provincias con mayor área sembrada son Chimborazo, Cotopaxi, Cañar y Pichincha (32, 53).

1.1.3.2 Características del cultivo

La **cebada** se cultiva principalmente en climas templados como cosecha de primavera y generalmente su distribución es similar a la del trigo. La cebada crece bien en suelos drenados, que no necesitan ser tan fértiles como los dedicados al trigo (92).

1.1.3.3 Requerimientos climáticos

Las exigencias en cuanto al clima son muy pocas, por lo que su cultivo se encuentra muy extendido, aunque crece mejor en los climas frescos y moderadamente secos. La cebada requiere menos unidades de calor para alcanzar la madurez fisiológica, por ello alcanza altas latitudes y altitudes. El cultivo se adapta a un amplio rango altitudinal ubicados desde 2500 a 3500 m.s.n.m (53, 68).

1.1.3.4 Temperatura

Para germinar necesita una temperatura mínima de 6°C, florece a los 16°C y madura a los 20 °C. Tolera muy bien las bajas temperaturas, ya que puede llegar a soportar incluso hasta -10 °C. En climas donde las heladas invernales son muy fuertes, se recomienda sembrar variedades de primavera, pues éstas comienzan a desarrollarse cuando ya han pasado los fríos más intensos (68).

1.1.3.5 Suelo

La cebada prefiere tierras fértiles, pero puede tener buenas producciones en suelos poco profundos y pedregosos, con tal de que no falte el agua al comienzo de su desarrollo. No le van bien los terrenos demasiado arcillosos y tolera bien el exceso de salinidad en el suelo. Los terrenos compactos no le van bien, pues se dificulta la germinación y las primeras etapas del crecimiento de la planta (68).

Los suelos arcillosos, húmedos y encharcadizos, son desfavorables para la cebada, aunque en ellos se pueden obtener altos rendimientos si se realiza un buen laboreo y se conserva la humedad del suelo. Los suelos con excesivo nitrógeno inducen el encamado e incrementan el porcentaje de nitrógeno en el grano hasta niveles inapropiados, cuando se destina a la fabricación de malta para cerveza (68).

En cuanto al calcio, la cebada es muy tolerante, vegetando bien incluso en suelos muy calizos, por lo que muchas veces a este tipo de suelos es corriente llamarlos “cebaderos”, si bien tiene un amplio margen en cuanto a tolerancia de diferentes valores de pH. A las cebadas cerveceras les van bien las tierras francas, que no sean pobres en materia orgánica, pero que su contenido en potasa y cal sea elevado (68).

1.1.3.6 Propagación

Actualmente, en Ecuador existen varios ecotipos locales especialmente en las provincias de Chimborazo y Cotopaxi. En el año 2009, el Programa de Cereales el INIAP evaluó la adaptación y rendimiento de seis variedades de cebada cervecera introducidas, resultando la variedad canadiense Metcalfe la que presentó las mejores características entre las estudiadas. Metcalfe alcanzó un rendimiento cercano a las 4 t por hectárea en tres localidades (Granja Experimental Chuquipata, EESC y Cobuendo). Adicionalmente presentó una buena adaptación y mostró niveles de resistencia aceptables a enfermedades como roya amarilla, roya de la hoja y escaldadura. La variedad Metcalfe también presentó características aceptables para procesamiento industrial (13, 15).

1.1.3.7 Producción y productividad

Según los datos del MAGAP, 44.804 hectáreas son destinadas a la producción de este cereal. Durante el 2006 se obtuvieron 36.387 t para el consumo local, aunque también se exportaron. En las estadísticas, Chimborazo y Cotopaxi son las provincias donde se cultiva más esta planta (30.346 hectáreas). Entre ambas zonas existe una producción de 1.672 kg por hectárea (12, 32).

El rendimiento promedio de cebada en el país es de 0.6 ton por hectárea, siendo la cifra más baja en América del Sur. En las últimas cuatro décadas no se ha logrado estabilidad o incrementos en los niveles de productividad, encontrando variaciones desde 0.5 ton hasta 1 ton por hectárea. El aumento de la demanda de cebada provocado por la reducción de la superficie cultivada ha ocasionado importaciones de cebada que han crecido de una manera notable desde el año 2000 (Banco Central del Ecuador, 2009) (87).

Las variedades de cebada que se cultivan en el país no reúnen los requisitos exigidos por la industria cervecera para su procesamiento. Según Rivadeneira (2005) las necesidades de las

cervecerías son cubiertas por la importación total de malta especialmente desde malterías colombianas, con promedios anuales que superan las 25.000 t. (53, 63).

La industria cervecera exige que una variedad de cebada presente una serie de características en el grano, sin embargo, una de las características más importantes es el contenido de proteína. El contenido de proteína en el grano debe ser del 10% al 12%. Valores superiores o inferiores a este rango afectan características de gran importancia en la calidad de la malta que se fabrica como el gusto de la cerveza, mantenimiento de la estabilidad de la espuma y la nutrición de las levaduras (2, 37).

Julio y Septiembre son los meses de cosecha de cebada en la sierra centro del país, aunque los fuertes vientos y las bajas temperaturas son las adversidades que afrontan los agricultores para poder sacar los productos de la tierra, también las plagas dañan los cultivos, además de las lanchas que son ligeras lloviznas con temperaturas bajas que queman a la planta (12).

Entre otros productos derivados de la cebada están el grano perlado entero, el grano partido (arroz de cebada), harina y machica (12).

1.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL

Es bastante acentuado en la población, la creencia de que la mayor fuente de proteínas procede del reino animal, es decir, carnes, pescados, lácteos y huevos entre otros. Pero tal creencia no es del todo valedera, de hecho gran número de plantas tienen un rico contenido proteico; la cebada por ejemplo tiene más proteína que el trigo, pero tiene mucho menos gluten. (76, 90).

La cebada posee grandes cantidades de aminoácidos esenciales (son aquellos que el hombre no es capaz de sintetizar por lo que los debemos introducir a través de la alimentación). Resaltando su contenido en triptófano, precursor de la biosíntesis de diversas sustancias, entre ellas, la serotonina, sustancia vasoconstrictora y

neurotransmisora, además aporta su mayor riqueza en lisina (aminoácido limitante en el trigo)(76, 90).

En materia de **minerales**, la cebada es buena fuente de potasio, magnesio y fósforo, pero su mayor virtud es la riqueza en oligoelementos: hierro, azufre, cobre, cinc, manganeso, cromo, selenio, yodo y molibdeno. Esto la convierte en alimento ideal para estados carenciales y para el proceso de crecimiento (76).

La cebada es el cereal mejor dotado de fibra y sobre todo en materia de fibra soluble (beta glucanos). Esta fibra retarda el índice de absorción de la glucosa y reduce la absorción de colesterol. Además la cebada posee otras sustancias benéficas, como los lignanos, antioxidantes, ácidos grasos esenciales, tales como el linoleico, linolénico, zoomárico, cáprico, oleico, erúxico, laúrico, esteárico, palmítico, mirístico, araquérico, etc., vitamina C, biotina, tiamina (vitamina B₁), colina, riboflavina (vitamina B₂), ácido fólico, piridoxina (vitamina B₆), carotenos (provitamina A), ácido nicotínico (vitamina B₃), ácido pantoténico (vitamina B₅).(90).

1.1.4.1 Composición

La composición proximal de la cebada en base seca, del grano y de la paja de cebada se aprecia en las tablas 1, 2 y 3 respectivamente.

TABLA 1. COMPOSICIÓN DE LA CEBADA EN BASE SECA

| Componentes | Porcentajes (%) |
|--------------------|------------------------|
| Humedad | 12,0 – 13,0 |
| Carbohidratos | 65,0 – 72,0 |
| Proteína | 10,0 – 11,0 |
| Grasa | 1,5 - 2,5 |
| Fibra | 2,5 - 4,5 |
| Ceniza | 2,0 - 3,0 |

FUENTE:www.fenalec.org

TABLA 2. COMPOSICIÓN DEL GRANO DE CEBADA POR 100 g DE MASA

| Componentes | (g) |
|---------------------|------------|
| Proteínas | 10 |
| Materia grasa | 1.8 |
| Hidratos de carbono | 66.5 |
| Celulosa | 5.2 |
| Materias minerales | 2.6 |
| Agua | 14 |

FUENTE:www.fenalec.org

TABLA 3. COMPOSICIÓN DE LA PAJA DE CEBADA POR 100 g DE MASA

| Componentes | (g) |
|------------------------|------------|
| Proteínas | 1.9 |
| Materia grasa | 1.7 |
| Materia no nitrogenada | 43.8 |
| Celulosa | 34.4 |
| Cenizas | 4 |
| Agua | 14.2 |

FUENTE:www.fenalec.org

1.1.5 USOS DE LA CEBADA

En algunos países del Cercano Oriente y de América del sur como Colombia y Ecuador, aún se utiliza como alimento para consumo humano. Sin embargo, la cebada es mucho más utilizada en el malteado y obtención de mostos para la elaboración de cerveza y para la fabricación de whisky escocés y de ginebra holandesa. Otra pequeña proporción se destina para la alimentación animal (92).

De la molienda de los granos se puede obtener una harina utilizable, mezclada a la de trigo, en la panificación. Los copos de cebada (cebada perla) pueden ser usados para

enriquecer sopas, la leche y también el yogurt. Con la cebada tostada se obtiene un óptimo sustituto del café y bebidas aptas también para los niños (73).

1.1.6 BENEFICIOS

- Es uno de los cereales altamente digeribles y con un elevado poder nutricional, por lo cual es ideal su consumo al presentarse alteraciones gástricas e intestinales. Colabora en la digestión de los alimentos, favoreciendo su asimilación y correcto metabolismo por parte de las células (67, 73).
- Como consecuencia de la digestión y metabolismo de los alimentos, el organismo fabrica y acumula una serie de metabolitos ácidos, cuando aparecen en cantidades mayores a las eliminadas, se crea un estado de autointoxicación. La cebada ayuda a conseguir el equilibrio químico del cuerpo, sin tener que provocar cambios drásticos en la alimentación(98).
- Previene la descalcificación de los huesos gracias al contenido de calcio y fósforo en una relación equilibrada. Al mismo tiempo su riqueza en calcio y magnesio la hacen interesante para los problemas de osteoporosis (73, 75).
- Puede ser una ayuda válida en la prevención de las enfermedades cardiovasculares debido a su contenido de ácidos grasos esenciales (hipolipidemiantes. Antiateromatosos, hipotensores, antiagregantes plaquetarios, etc.), minerales y su poder alcalinizante (67, 73).
- Previene contra la cirrosis y esteatosis hepáticas, por su contenido en colina (sustancia que se opone a los depósitos de grasa en el hígado) y en ácidos grasos esenciales (90).

- Tiene una acción desintoxicante, cura los malestares y las inflamaciones del aparato digestivo y de las vías urinarias, ya que las enzimas que contiene colaboran en la digestión de los alimentos favoreciendo su asimilación en el organismo (73).
- El contenido de sodio y potasio mantienen el equilibrio del líquido corporal evitando la retención excesiva de agua y las deshidrataciones (73).
- Por su contenido de ácidos grasos esenciales ayuda al metabolismo de los lípidos y por tanto facilita el control de peso (67, 73).
- Previene las alteraciones hormonales en la mujer ya que contiene compuestos, por ejemplo las isoflavonas que confieren capacidad estrogénica, además durante el embarazo es sabida la garantía de salud para el feto y es de gran apoyo durante la lactancia por su contenido en vitaminas y minerales (73).
- La rigidez muscular sobre todo de hombros y espalda, se debe a un acumulo de ácido láctico principalmente causado por el estrés, el efecto alcalizante y remineralizante de la cebada es fundamental para disminuir este problema (73, 74).
- En procesos reumáticos (artrosis, artritis, gota) en donde existe una gran tendencia acidosis en el organismo, la cebada tiene un gran campo de acción por su poder alcalizante. El consumo de cebada es recomendable para los deportistas ya que además de ser ideal para responder la gran cantidad minerales que se han perdido por el sudor. La cebada por su poder alcalinizante, contrarrestan los efectos de la acidosis producidos en los periodos de máximo esfuerzo muscular (73, 75).
- En niños por su riqueza en vitaminas (B₁, B₂, B₆, A, C, ácido fólico y pantoténico, colina y biotina) y minerales (calcio magnesio, zinc, sodio, potasio), la cebada es muy útil en periodos de crecimiento, en la falta de apetito, desarrollo muscular y mental, y en caso de infecciones repetitivas (73).

- Por la capacidad antianémica de la clorofila, ácido fólico, hierro y cobre que favorecen y estimula la síntesis de hemoglobina (75).

1.2 NUTRIENTES

Los nutrientes son sustancias químicas que, contenidas en los alimentos, permiten al organismo obtener energía, formar y mantener estructuras y regular los procesos metabólicos.

Tipos y función:

- **Macronutrientes:** Son los hidratos de carbono, proteínas y lípidos. De todos ellos se puede obtener energía y forman estructuras.
- **Micronutrientes:** Tienen funciones protectoras y reguladoras del metabolismo. Son los minerales y las vitaminas.
- **Nutrientes esenciales:** No pueden ser generados por nuestro organismo y por tanto, deben ser aportados desde el exterior.
- **Nutrientes no esenciales:** Pueden ser sintetizados endógenamente (79).

1.2.1 COMPONENTES INDESEABLES DE LOS ALIMENTOS

Son moléculas que generalmente aparecen de forma natural en los productos agrícolas, pero que pueden provocar efectos indeseables en los consumidores, al reducir su valor nutritivo o al alterar funciones de células y tejidos (79).

Pueden distinguirse dos grandes tipos:

1.2.1.1 Componentes tóxicos

Su ingesta puede provocar alteraciones funcionales en células y tejidos. Incluyen los aminoácidos tóxicos, o latirógenos, los alcaloides, los glucósidos cianogénicos, las saponinas y los alcoholes de bajo peso molecular (tabla 4) (79).

TABLA 4. PRINCIPALES COMPONENTES TÓXICOS

| COMPUESTOS | EFECTOS | LOCALIZACIÓN |
|---|---|--|
| Aminoácidos tóxicos, o Latirógenos | Pueden ser inhibidores de la actividad enzimática, o bien interfieren en el funcionamiento del sistema nervioso, digestivo y causan anomalías en el esqueleto. Los aminoácidos no proteínicos se clasifican en dos grupos: <ul style="list-style-type: none"> - Los de estructura similar a los proteínicos o análogos (canavanina, mimosina, entre otros) - Los de estructura diferente o aminoácidos raros (latirina o hipoglicina) | Semillas |
| Alcaloides | Bloqueo de la acción de neurotransmisores | Raíces, semillas y hojas, ensolanáceas, leguminosas y papaveráceas |
| Glucósidos Cianogénicos | Inactivación de metaloenzimas y de cofactores enzimáticos metálicos al liberar CN ⁻ . El cianuro en cantidad de trazas está ampliamente distribuido en las plantas en forma de glucósidos. Cuando el material biológico se macera o se daña, puede liberar cianuro por una acción enzimática, que generalmente se debe a la β-glucosidasa | Leguminosas (linamarina); sorgo (durrina), almendras amargas y semillas de frutas (amigdalina) |
| Saponinas | Son glucósidos que poseen tres propiedades distintivas: sabor | Hortalizas (espinacas, espárragos, alfalfa, |

| | | |
|---|---|--|
| | amargo, potentes surfactantes y pueden causar hemolisis en eritrocitos | remolacha), leguminosas (soja, garbanzo), té, avena |
| Alcoholes de bajo peso molecular | Alteraciones nerviosas, ceguera (metanol), cirrosis hepática y cáncer hepático (etanol) | Bebidas alcohólicas, productos que han sufrido degradación de pectinas por pectinasas, uso de dicarbonato de dimetilo para evitar alteraciones microbianas |

FUENTE: BADUI, 2006.

1.2.1.2 Antinutrientes

Los antinutrientes son compuestos naturales o sintéticos que interfieren con la absorción de nutrientes, su ingesta reduce el valor nutritivo de los alimentos. Entre los antinutrientes hay sustancias alimenticias y sustancias tóxicas (70, 96, 97).

Se distinguen cinco grupos: factores de flatulencia, inhibidores de enzimas, antivitaminas, antiminerales y antinutrientes polivalentes.

1.2.1.2.1 Factores de flatulencia

Son moléculas que afectan o inhiben la utilización de proteínas o del almidón, provocando la aparición de procesos fermentativos en el tubo digestivo, conformación de gases que producen flatulencia. Se trata de oligosacáridos. Los más importantes son los α -galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa), que aparecen sobre todo en las semillas de leguminosas (4, 79).

Estos oligosacáridos pasan al intestino delgado, en donde microorganismos de la flora intestinal producen gases como: CO_2 , H_2 y CH_4 , siendo entre otros factores uno de los causantes de este malestar. Incluso en algunos casos se presentan náuseas con cólicos dolorosos (4, 51).

1.2.1.2.2 Inhibidores de enzimas

Son moléculas que afectan o inhiben la utilización de proteínas o del almidón, al inhibir la actividad de proteasas del tubo digestivo de los mamíferos (pepsina, tripsina, quimotripsina) o de la α -amilasa. Aparecen sobre todo en cereales, leguminosas y tubérculos (4, 79).

Gran parte de los alimentos de origen vegetal, presentan inhibidores de proteasas; sin embargo, es de destacar la amplia presencia de los inhibidores de tripsina en alimentos de origen vegetal, en donde la mayor proporción se manifiesta en la semilla. Los inhibidores de tripsina pueden coexistir en la misma planta con otros inhibidores proteolíticos, además la tripsina, es una enzima digestiva de gran importancia en la digestión de los monogástricos como el hombre. Estas proteínas han sido aisladas de diferentes plantas o animales (55, 70, 79).

1.2.1.2.3 Antivitaminas

Son moléculas que interfieren en la síntesis o en el metabolismo de las vitaminas, bien por inactivación, bien por combinación irreversible, bien por inhibición competitiva (79).

Se caracterizan por la formación de complejos o precipitados insolubles con las vitaminas, impidiendo así la absorción de ambos (avidina, niacinógeno). Enzimas que degradan las vitaminas (tiaminasas, ascórbico-oxidasas, etc). Y sustancias estructuralmente similares a las vitaminas, donde compiten con ellas pues carecen de su actividad biológica (cital). (4, 78).

Entre los primeros descubrimientos de antivitaminas (1926) están los relacionados a la mala absorción de calcio, siendo descubiertas la antivitamina D o ácido fítico. En el caso de avidina (un tipo de proteína), presente en la clara de huevo cruda, se demostró que era

dañino ingerir este tipo de alimento sin cocción, sin embargo el efecto era conocido desde 1916 pero no se relacionaba con la biotina, la cual fue descubierta posteriormente. El efecto de la avidina es formar un derivado insoluble con la biotina (tabla 5) (4).

TABLA 5. COMPUESTOS ANTIVITAMÍNICOS

| TIPO | EFFECTOS | LOCALIZACIÓN |
|--|---|--|
| Antivitamina A (lipoxidasa) | Inhibición de la acción de la vitamina A | Algunos frutos |
| Antitiamina (derivados del o-catecol, taninos) | Alteración de la estructura de la vitamina B1, produciendo avitaminosis | Frutas y hortalizas (arándanos, grosellas, remolacha, coles de Bruselas, calabaza roja), té |
| Ácido ascórbico oxidasa | Oxidación del ácido ascórbico a los ácidos dehidroascórbico y dicetoglucónico | Hortalizas pobres en vitamina C (calabaza, pepino, col, zanahoria, guisantes, lechuga), plátano, melón |
| Antivitamina D (citrál) | Inhibición de la vitamina D frente al raquitismo | Frutos cítricos |

FUENTE: <http://portal.uam.es>

1.2.1.2.4 Antiminerales

Son moléculas que interfieren en la asimilación de minerales (tabla 6) (79).

TABLA 6. COMPUESTOS ANTIMINERALES

| TIPO | EFFECTOS | LOCALIZACIÓN |
|---|---|---|
| Glucosinolatos o sustancias promotoras del bocio | Interferencia en la disponibilidad de yodo para la glándula tiroides causando hipertrofia de la glándula, al generar isotiocianatos | Hortalizas (coliflor, coles de Bruselas, calabaza, nabo, rábano, colza, mostaza blanca y negra) |
| Glucósidos cianogénicos | Asfixia tisular por la liberación de cianuro | Mandioca, sorgo, judías de lima |
| Ácido oxálico | Interferencia en la disponibilidad de calcio, puede originar la formación | Hortalizas (ruibarbo, espinaca, remolacha), café, cacao, té |

decálculos renales

FUENTE: <http://portal.uam.es>

1.2.1.2.5 Antinutrientes polivalentes

Son moléculas que pueden interferir en la asimilación de distintos nutrientes (tabla 7).

TABLA 7. COMPUESTOS POLIVALENTES ANTINUTRITIVOS

| TIPO | EFECTOS | LOCALIZACIÓN |
|-----------------------------------|--|---|
| Lectinas o hemoaglutininas | Bloqueo de la absorción de distintos nutrientes, inhibición del crecimiento, aglutinación de eritrocitos | Semillas (leguminosas, lino) |
| Taninos | Disminución de la digestibilidad de proteínas, lípidos e hidratos de carbono, gastroenteritis. Sin embargo estas sustancias así como el ácido fítico, poseen propiedades anticancerígenas, conteniendo en los alimentos amplias cantidades de estos compuestos podría ser saludable para algunas personas a pesar de sus propiedades antinutricionales. | Cereales, legumbres, frutas verdes, té |
| Fitatos | Inhibición de enzimas digestivas, interferencia en la digestión y absorción de proteínas e hidratos de carbono, gran capacidad quelante frente a Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , Fe^{++} y Cu^{++} | Semillas (cereales, oleaginosas, leguminosas) |
| Gosipol | Inhibición de enzimas digestivas, disminución del apetito, provoca estreñimiento. Inhibe a la glutatión S-transferasa, la cual facilita la biotransformación de algunos tóxicos. Además se ha sugerido que es un potente anticonceptivo para hombres, | Semillas de algodón |

debido a que inhibe competitivamente la deshidrogenasa láctica, la cual juega un papel importante en la producción de espermatozoides. La planta sirve como alimento de ganado.

FUENTE: <http://portal.uam.es>

1.3 DIGESTIÓN

Es conveniente tener en cuenta que los procesos vitales de nuestro organismo se mantienen gracias a que nos alimentamos y nutrimos. Siempre que hablemos de nutrición vamos a referirnos a todos aquellos procesos metabólicos que se producen en nuestro organismo a partir de compuestos que aparecen en los alimentos y que reciben el nombre de nutrientes (80, 94, 99).

La digestión es el proceso de transformación de los alimentos, previamente ingeridos, en moléculas más sencillas o solubles para ser absorbidos por los tejidos y células del cuerpo. Aunque no siempre es necesario que se produzca algún cambio para que las moléculas se absorban. Por ejemplo, el agua, los minerales y ciertos hidratos de carbono se absorben sin modificación previa. En el proceso de digestión también intervienen las glándulas salivares, el hígado y el páncreas y está regulado por mecanismos nerviosos y hormonales (69, 99).

1.3.1 Proceso digestivo

El proceso de digestión se divide en dos etapas:

Mecánico: incluye la masticación, deglución, peristaltismo y la eliminación de los componentes indigeribles.

Químico: a través de reacciones biológicas donde intervienen enzimas, hace que los nutrientes se transformen en moléculas sencillas a partir de otras más complejas (69, 94, 99).

El proceso comienza en la boca donde se produce la mezcla y humectación del alimento con la saliva, mientras éste es triturado mecánicamente por masticación, facilitando la deglución. La saliva contiene ptialina, una enzima que hidroliza una pequeña parte del almidón a maltosa. De la boca, el alimento pasa rápidamente al esófago y al estómago, donde se mezcla con los jugos gástricos constituidos por pepsina (una enzima que comienza la digestión de las proteínas), ácido clorhídrico y el factor intrínseco, necesario para que la vitamina B12 se absorba posteriormente. El tiempo de permanencia del quimo (mezcla semilíquida del alimento) (2-4 horas) depende de múltiples factores, como por ejemplo, el tipo de alimento. Aquellos ricos en grasas permanecen más tiempo y los que tienen grandes cantidades de hidratos de carbono pasan rápidamente (69, 81, 94, 99).

En el intestino delgado tiene lugar la mayor parte de los procesos de digestión y absorción. El alimento se mezcla con la bilis, el jugo pancreático y los jugos intestinales. Durante la fase química de la digestión diferentes enzimas rompen las moléculas complejas en unidades más sencillas que ya pueden ser absorbidas y utilizadas. Algunas de las enzimas más importantes son las lipasas (que hidrolizan las grasas en ácidos grasos y glicerol), la amilasa (que hidroliza el almidón) y las proteasas (tripsina y quimotripsina, que convierten las proteínas en aminoácidos) (69, 82, 94, 99).

En el intestino grueso, las sustancias que no han sido digeridas pueden ser fermentadas por las bacterias presentes en él, dando lugar a la producción de gases. Igualmente pueden sintetizar vitaminas del grupo B y vitamina K, aportando cantidades adicionales de estas vitaminas que serán absorbidas (69, 82, 99).

1.3.2 Absorción

El proceso de absorción de nutrientes se produce principalmente y con una extraordinaria eficacia a través de las paredes del intestino delgado, donde se absorbe la mayor parte del

agua, alcohol, azúcares, minerales y vitaminas hidrosolubles, así como los productos de digestión de proteínas, grasas e hidratos de carbono. Las vitaminas liposolubles se absorben junto con los ácidos grasos (69, 82, 94, 99).

La absorción puede disminuir notablemente si se ingieren sustancias que aceleran la velocidad de tránsito intestinal, como la fibra dietética ingerida en grandes cantidades y los laxantes. Igualmente, la fibra y el ácido fólico pueden reducir la absorción de algunos minerales, como el hierro o el zinc (69, 99).

En el intestino grueso, donde se reabsorbe una importante cantidad de agua del residuo que llega del intestino delgado, se almacenan las heces hasta ser excretadas por el ano. Las heces, además de los componentes no digeridos de los alimentos, contienen gran cantidad de restos celulares, consecuencia de la continua regeneración de la pared celular (69, 82, 99).

Una vez absorbidos los nutrientes son transportados por la sangre hasta las células en las que van a ser utilizados. Los ácidos grasos que pasan a la pared intestinal son transformados inmediatamente en triglicéridos que serán transportados hasta la sangre por la linfa. La grasa puede ser transformada posteriormente en el hígado y finalmente se deposita en el tejido adiposo, una importante reserva de grasa y de energía (69, 82, 99).

Los hidratos de carbono en forma de monosacáridos pasan a la sangre y posteriormente al hígado desde donde pueden ser transportados como glucosa a todas las células del organismo para ser metabolizada y producir energía. La insulina es necesaria para la incorporación de la glucosa a las células. Los monosacáridos también pueden ser transformados en glucógeno, una fuente de energía fácilmente utilizable que se almacena en el hígado y en los músculos esqueléticos (94, 99).

Los aminoácidos de las proteínas pasan igualmente a la sangre y de ésta al hígado. Posteriormente pueden pasar a la circulación general para formar parte del pool de aminoácidos, un importante reservorio que será utilizado para la síntesis de proteínas

estructurales y enzimas. Los aminoácidos en exceso también pueden ser oxidados para producir energía (94, 99).

1.4 ÁCIDO FÍTICO

Los alimentos de origen vegetal contienen una serie de sustancias denominadas **factores antinutricionales**, capaces de disminuir la disponibilidad de nutrientes indispensables. A este grupo de sustancias pertenece el ácido fítico (AF) o ácido mio-inositolhexafosfórico (IP₆) que se encuentra en los cereales, legumbres, leguminosas, frutos secos y semillas, reduce la biodisponibilidad de proteínas y minerales ya que forma un complejo de fitato-mineral-proteína, incluso se ha sugerido que también puede formar complejos con los carbohidratos (4, 57, 72).

El fitato representa una clase compleja de compuestos fosfóricos que se dan en la naturaleza y que pueden influir notablemente en las propiedades funcionales y nutricionales de los alimentos (57).

1.4.1 ESTRUCTURA QUÍMICA Y PROPIEDADES

El ácido fítico fue descrito por primera vez por Pasternak en 1903, consiste de unamolécula de inositol con 1 a 6 grupos ortofosfato unidos mediante enlaces éster. Químicamente, la molécula de IP-6 se define como mio-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexafosfórico, contiene un 28,2% de P y posee 6 grupos ortofosfato, como se muestra en figura 4. (40, 44, 66).



Mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfórico

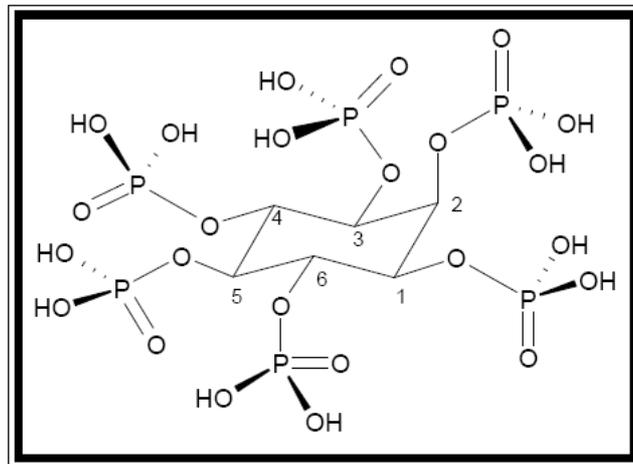


FIGURA 4. ESTRUCTURA DEL MIO-INOSITOL 1, 2, 3, 4, 5, 6, HEXAFOSFÓRICO

Según esta estructura, el AF, a pH neutro, pH que normalmente presentan los alimentos, es una molécula cargada negativamente y por tanto muy reactiva, por lo que presenta una elevada capacidad para formar complejos o unirse a moléculas cargadas positivamente como cationes o proteínas. La interacción del AF con las proteínas es pH-dependiente, mientras que con los cationes la interacción es debida exclusivamente a sus numerosos grupos fosfato, éstos pueden unirse bien a un sólo grupo fosfato, a dos grupos fosfato de una misma molécula o a grupos fosfato de distintas moléculas de AF (38).

Los fitatos son sales del ácido fítico con distintos cationes; así la fitina es la sal del ácido fítico con los cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} . Fitatos y fitina no son pues términos equivalentes. (28, 40).

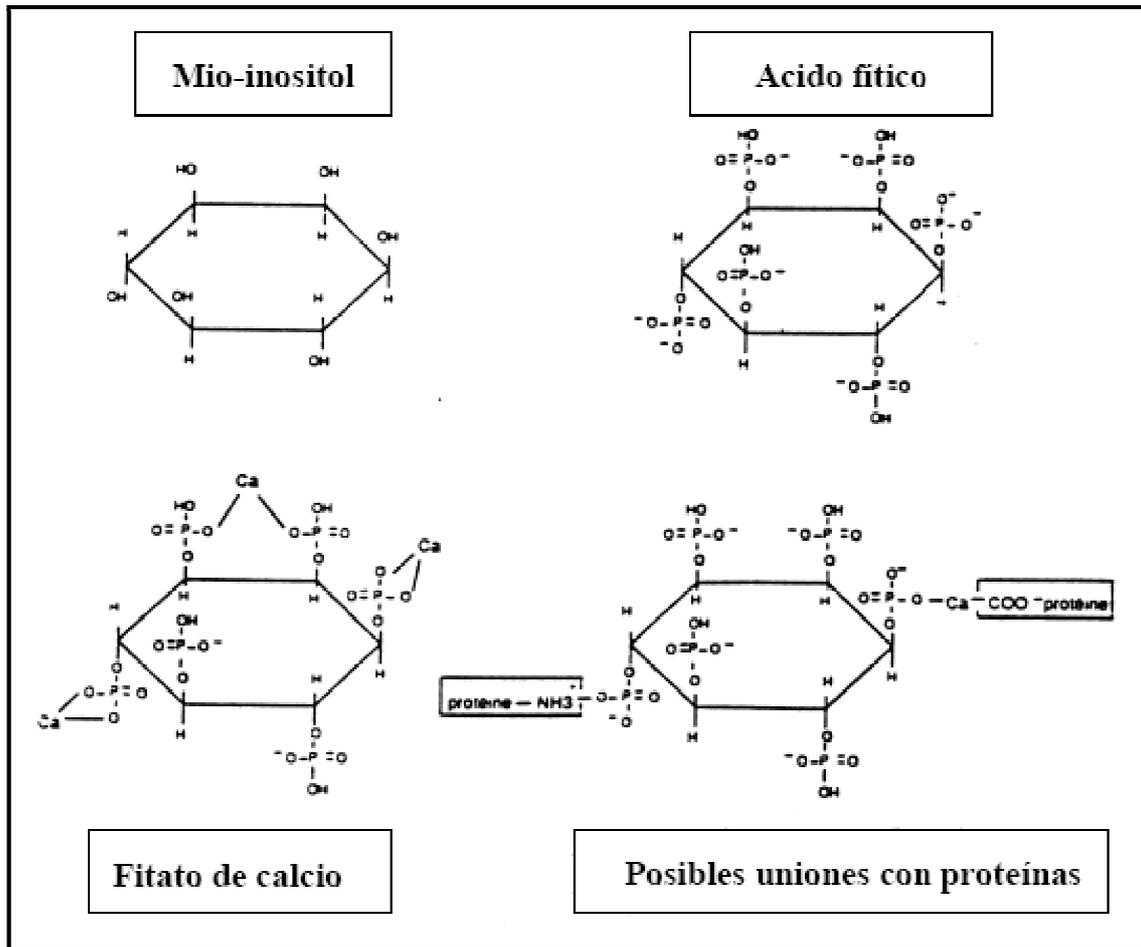


FIGURA 5. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL MIOINOSITOL, ÁCIDO FÍTICO Y FITATOS
FUENTE:SAUVEUR, 1989.

Debido a que la molécula de ácido fítico contiene seis grupos fosfato con carga, es un excelente agente quelante que forma complejos con cationes minerales y proteínas, como se muestra en la figura 5. Muchos de estos complejos son insolubles y, si se considera que la solubilidad es un factor esencial para que los nutrientes sean absorbidos, la presencia de ácido fítico hace que se reduzca la biodisponibilidad de estos, pues la "insolubilidad" de este es la principal causa de su comportamiento antinutricional y de sus propiedades fisicoquímicas y, en consecuencia, va a influir en el valor nutritivo de los alimentos (10, 57).

Por lo cual, el hombre no puede aprovechar los nutrientes debido a que el organismo no produce la enzima necesaria para hidrolizar el ácido fítico (fitasa) y liberar así los nutrientes indispensables de estos compuestos (57, 39, 89).

1.4.2 DISTRIBUCIÓN Y LOCALIZACIÓN

Los fitatos son de naturaleza vegetal y por tanto no aparecen en materias primas de origen animal o mineral. Se acumulan preferentemente en las semillas donde cumplen una función de reserva de P, minerales y energía y, por tanto, su contenido en tallos y hojas es muy bajo. En los cereales se encuentra en las capas externas como aleurona y en el germen, en forma de subestructuras cristalinas en los cuerpos proteínicos. Su localización varía según el tipo de grano. En trigo y centeno, así como en la mayor parte de las monocotiledoneas, entre el 80 y el 90% de los fitatos se localiza en las capas de aleurona y en el pericarpio, mientras que en el maíz y sorgo se acumulan en el germen. En las leguminosas se concentran en los cotiledones y en las oleaginosas se distribuyen de forma difusa por toda la semilla asociados a los cuerpos globulares ricos en proteína. El AF se encuentra en los alimentos, especialmente en cereales y leguminosas, en niveles del 0,1 - 6%, dependiendo su concentración de la parte de la planta que se consuma.(17, 40, 57, 93, 104).

En los granos, el AF está presente bajo forma de fitina y, sobre todo, como fitatos mixtos de K^+ , Mg^{++} y Ca^{++} , como se puede observar en la figura 5. Otros cationes (Zn^{++} , Fe^{++} , Cu^{++}) también están presentes pero en menor cantidad. (38, 40).

1.4.3 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO FÍTICO

La determinación del ácido fítico, debe realizarse dependiendo del tipo de muestra con que se trabaja (granos de cereales, semillas de leguminosas, alimentos procesados, contenido intestinal, tejidos biológicos), la información que queremos obtener (determinación cualitativa o cuantitativa, contenido total en ácido fítico, determinados inositoles fosfato o alguno de sus isómeros) y disponibilidad de equipos (19).

Dado que el AF no tiene un espectro de absorción característico, y por tanto no existen reactivos específicos para su identificación, su determinación ha constituido un problema analítico durante mucho tiempo. Hasta 1980, el AF era exclusivamente determinado a

través de métodos de precipitación no específicos o de intercambio iónico. En la actualidad, aunque algunos de los métodos anteriores siguen vigentes, el empleo de procedimientos en los que se incluyen HPLC de fase reversa, cromatografía de par iónico o RMN es común (38, 71).

Los métodos de determinación del ácido fítico se los ha dividido en cualitativos y cuantitativos (19, 65).

1.4.3.1 Métodos cualitativos

Oberleas y Harland (1986) llevaron a cabo una revisión de los métodos cualitativos de separación e identificación de los inositoles fosfato. En ésta, destacan la cromatografía en papel, la electroforesis o el empleo del microscopio de luz polarizada (19, 43).

1.4.3.2 Métodos cuantitativos

Los métodos cuantitativos de determinación del AF son los más empleados. Latta y Eskin (1980) emplearon a este fin un método basado en la precipitación de las sales insolubles del AF, el cual, debido a su sencillez y a su bajo coste se sigue empleando actualmente en algunos laboratorios. No obstante, este método en relación a otros como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Sandberg y Ahderinne, 1986) o la resonancia magnética nuclear (RMN) (Frolichet *al.*, 1986) va perdiendo trascendencia progresivamente (19, 71).

El método oficial de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1986.11) (1997) permite cuantificar indirectamente IP_6 mediante determinación espectrofotométrica del fósforo inorgánico presente. No obstante este método no nos permite distinguir IP_6 de otros inositoles de un menor número de fosfatos. Distintos métodos, basados principalmente en la cromatografía, se llevan a cabo para separar y cuantificar los diferentes inositoles fosfato. El descubrimiento (Berridge e Irving, 1989)

de la importante función fisiológica que realiza el inositol 1,4,5-trifosfato como segundo mensajero celular movilizando el calcio presente en el retículo endoplásmico, ha despertado un mayor interés en el estudio de los distintos inositoles fosfato (19, 38, 57).

1.4.3.2.1 Métodos de Precipitación

Estos métodos están basados en el desarrollado por Heubner y Stadler, y la mayor parte de ellos incluyen la precipitación a bajo pH y la formación, en presencia de un exceso de ión férrico de un complejo Fe-fitato y la subsiguiente cuantificación del P, Fe o del inositol en el precipitado. En los casos en que la cuantificación final se realiza sobre el hierro, la concentración de fósforofítico es calculada usando una razón teórica Fe:P de 4:6, en estos métodos es importante el lavado del precipitado obtenido ya que la presencia de SO_4^- o Cl^- en la extracción puede alterar la razón Fe:P. Una vez obtenido el valor del P fítico, el cálculo del contenido de AF se realiza considerando el valor teórico 28,2% de P en la molécula de AF. Existen métodos indirectos en los que la cuantificación, ya sea del P o del Fe residual se realiza en el sobrenadante, y el AF es calculado por diferencia. Thompson y Erdman (1982) destacaron que los métodos basados en la determinación del P, Fe en el precipitado no son recomendables ya que estos autores encontraron variaciones en la determinación del ratio Fe:P del fitato férrico en las semillas de soja (7, 19, 59, 71).

1.4.3.2.2 Métodos de intercambio iónico

En estos métodos la etapa de precipitación es eliminada, la extracción del fitato se realiza directamente y la solución resultante es pasada a través de una resina de intercambio iónico, eluyendo primero el P, y posteriormente el fitato que es determinado por distintos procedimientos. El uso de una columna de intercambio aniónico fue introducido por Harland y Oberleas que desarrollaron un método en el que una vez extraído el fitato con HCl 1,2%, el extracto obtenido es eluido a través de una resina de intercambio iónico para separar el P inorgánico. El fitatoeluido es digerido con H_2SO_4 y HNO_3 concentrado,

y el contenido de P liberado cuantificado colorimétricamente. El principal inconveniente de éste método es que la etapa de digestión necesita una continua atención para minimizar las pérdidas producidas como consecuencia de una digestión incompleta o excesiva; se ha sugerido que sí la digestión ácida no es completa, las muestras sean introducidas en la mufla durante 8 horas a 535°C. Latta y Eskin desarrollaron un método más rápido y simple, basándose la reacción entre el ión férrico y el ácido sulfosalicílico. En éste, el AF es primero concentrado en una resina de intercambio aniónico, y una vez eluído el P inorgánico con NaCl 0,5 M se realiza la elución del fitato con NaCl 0,7 M. La concentración de fitato se determina colorimétricamente utilizando el reactivo de Wade ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 0,03% y ácido sulfosalicílico al 3%), utilizando como estándar fitato cálcico, que es previamente convertido en AF libre y determinado con el método de Harland y Oberleas, o bien fitato sódico que es soluble en agua por lo que no es necesaria su conversión en AF libre (19, 29, 64, 71).

En la actualidad sigue vigente el método considerado como oficial por la A.O.A.C. desarrollado por Harland y Oberleas. Estos autores considerando que el fitato en la planta se encuentra unido a proteínas y minerales, modificaron su método inicial mediante la inclusión del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el ajuste de los extractos a pH 7, para eliminar estas uniones y mejorar así la recuperación del fitato y la exactitud del ensayo. Así, el AF es extraído de la matriz del alimento con HCl al 2,4% y el extracto obtenido, una vez filtrado, es diluido con una solución de EDTA/NaOH y lavado a través de una columna de intercambio aniónico, donde la mayoría de las impurezas son eluídas fuera de la columna, mientras que el AF es retenido en la misma (19, 46, 71).

El principal inconveniente tanto de los métodos de precipitación como de los de intercambio iónico es la falta de especificidad, como consecuencia de la dificultad del ajuste, de las condiciones de hidrólisis necesarias para que sólo determinados inositol fosfato (InsP6) sean liberados para su cuantificación. Por ello estos métodos son válidos para aquellos cereales y leguminosas que se encuentren en estado natural, ya que en ellos básicamente sólo hay AF (InsP6), no aconsejándose su uso en alimentos procesados, ya que éstos contienen también cantidades apreciables de isómeros del AF desfosforilados como InsP5, InsP4 e InsP3 y posiblemente InsP2 e InsP. Estos fosfatos son determinados

también en los métodos de precipitación, y en los de intercambio iónico son retenidos en la columna y eluidos con el AF por lo que deberían de ser incluidos en el cálculo de AF, no siendo así los valores de AF obtenidos serían sobrestimados (19, 33, 46, 71).

1.4.3.2.3 Métodos Cromatográficos

HPLC

Mediante HPLC la muestra se fracciona entre una fase móvil que es líquida y una fase estacionaria, gracias a la utilización de una presión muy elevada para forzar el paso del disolvente por una columna que contiene partículas muy finas, consiguiendo así separaciones de gran resolución (56).

HPLC es un método rápido, preciso y simple para medir la cantidad de AF presente en un alimento. En 1989, Lehrfeld, con el objetivo de resolver los problemas planteados hasta el momento en la determinación de AF mediante HPLC, desarrolló un método de extracción y determinación de AF e inositoles de un menor número de fosfatos consistente en la utilización de resinas de intercambio aniónico para concentrar y purificar el ácido fítico e isómeros para su posterior determinación mediante HPLC, empleando para ello un detector de índice de refracción (19, 39, 71).

Este método permite identificar no solo el AF sino también otros inositoles fosfato, permite diferenciar claramente en el cromatograma entre el solvente y el analito y permite realizar el experimento en un solo día demostrando ser uno de los más eficaces y precisos (19, 71).

Anteriores aplicaciones del HPLC para la determinación del AF han empleado columnas de sílice de fase reversa (C18 y detectores de índice de refracción) solucionando problemas planteados hasta entonces. De este modo, Lee y Abendroth (1983) reconocieron un problema en la detección de AF mediante HPLC por el cual, el frente generado por el solvente coincidía con el pico producido por el

inositolhexafosfatoocultando por tanto esta molécula. Sandberg y Ahderinne (1986) demostraron que IP3, IP4, IP5 e IP6 podrían separarse ajustando el pH a un valor de 4,3; frente al método oficial de Oberleas y Harland (1986) que no permitía detectar los isómeros de inositolhexafosfato (19, 71).

1.4.3.2.4 HPIC

Este método, en comparación a los que emplean la precipitación revisados anteriormente, resultan en la detección unas mayores concentraciones de AF (Ellis y Morris, 1982). En 1986, la AOAC adoptó como método (AOAC Officialmethod 986.11 phytate in foods; Harland y Oberleas, 1986) la cromatografía de intercambio iónico. Talamondet *ál.*, (1998) propusieron un método rápido y sensible para la determinación del AF basado en una técnica de separación mediante una columna de intercambio aniónico y un detector de la conductividad. La aplicación de un gradiente de intercambio iónico seguido de precipitación permite la separación de los distintos inositoles fosfato y demuestra la sobreestimación en la determinación del contenido en AF determinada mediante el método de la precipitación (Phillippyet *ál.*, 1988). Diferentes autores (Talamondet *ál.*, 1998; López *et ál.*, 2000; Greiner, 2004) han empleado en sus estudios la HPIC para la determinación del ácido fítico en alimentos (19, 43, 71).

1.4.4 EFECTOS DEL ÁCIDO FÍTICO EN LOS NUTRIENTES

Los fitatos reducen la biodisponibilidad mineral e inhiben enzimas proteolíticas y amilolíticas. A pesar de que la naturaleza exacta y el grado de unión del AF a minerales y proteínas son difíciles de determinar, y su papel en la nutrición es complejo, sí está claro que altos niveles de AF en la dieta están asociados con efectos nutricionales adversos en el hombre. (38, 89, 100).

1.4.4.1 Biodisponibilidad

En lo que se refiere a biodisponibilidad (BD) de nutrientes hay que tener muy en claro su concepto.

En definitiva la biodisponibilidad de los nutrientes ya sea de un determinado mineral o de proteínas en un alimento o dieta podría definirse como la *“fracción de ese mineral presente en el alimento o dieta que es absorbida, retenida y utilizada para la función fisiológica a la que está destinada”*(9).

La cantidad de nutriente absorbido está muy influenciada por factores intrínsecos como extrínsecos al individuo. Dentro los primeros, como el estado nutricional, la flora intestinal, el pH gastrointestinal, el tiempo de tránsito, capacidad individual para adaptarse a variaciones en el aporte de nutrientes, el sexo, la edad, la etapa de desarrollo, características y anomalías genéticas, el estado fisiológico en sí, y el estado de salud en general (1).

Los factores extrínsecos, quizá más complejos que los anteriores, están más relacionados con factores en la dieta, como la cantidad total y forma del nutriente en ésta, presencia de promotores (compuestos que mejoran la absorción, como el ácido ascórbico y el “factor carne” en tejido animal) e inhibidores (compuestos que impiden la absorción, como los fitatos y polifenoles) (1).

1.4.4.2 Efectos en la biodisponibilidad mineral

Como consecuencia de su alto potencial quelante, el ácido fólico forma sales insolubles a pH neutro con numerosos cationes di y trivalentes (Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} , Mn^{++} , Cu^{++} ; impidiendo su absorción a nivel intestinal. Por ello se le considera como un antinutriente en alimentación. La solubilidad de las sales formadas con los cationes divalentes sigue el siguiente orden decreciente: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$. Los oligoelementos están fijados más fuertemente al ácido fólico que los metales alcalino-

terreos y éstos, a su vez, son más insolubles que los fitatos de cationes monovalentes (K⁺ y Na⁺)(38, 40).

Se señala que sólo el IP-6 y el IP-5 tienen poder quelante con los minerales. Los intermediarios del inositol con menos de 4 grupos ortofosfato (<IP-4) pierden esta capacidad lo que puede explicar, al menos en parte, la acción positiva de las fitasas sobre la absorción del Ca y otros minerales (38).

El ácido fítico constituye la mayor reserva de fósforo de las semillas de cereales y legumbres, de las que forma parte entre un 1% y un 6%. Pese a ello, los humanos no podemos aprovechar al máximo este mineral de los alimentos, ya el aparato digestivo no contiene las sustancias necesarias (fitasas intestinales) para romper el ácido fítico y liberar el fósforo que se encuentra en su interior. (28, 54, 72).

Los efectos adversos del AF en la biodisponibilidad mineral dependen de un gran número de factores entre los que se destacan la concentración de AF y la fuerza de su unión con los diferentes minerales. También influyen otros factores como:

- a)* Las condiciones de procesado del alimento (especialmente el pH), así como el tipo de AF (añadido o endógeno) y la concentración de minerales en dicho alimento.
- b)* Si el AF es ingerido en la misma comida que la fuente mineral o en comidas separadas.
- c)* La concentración de proteínas de la dieta, y por tanto la presencia de proteínas, péptidos o aminoácidos en el intestino que pueden interferir en la formación del complejo fitato- mineral.
- d)* La presencia de otros agentes quelantes como fibra dietética, ácido oxálico, ácido ascórbico, ácido cítrico o taninos, que pueden competir con el AF en su unión con minerales.
- e)* Tratamiento térmico del alimento.
- f)* pH.

- g) La presencia de fitasa de origen intestinal, bacteriana o de la dieta, así como la inhibición de dicha enzima, y
- h) La adaptación metabólica del individuo a altos niveles de AF. (38, 52).

1.4.4.2.1 Métodos de evaluación de la biodisponibilidad mineral

Para estimar la cantidad de minerales que aportan los alimentos no basta con conocer el contenido total presente en ellos sino que es necesario saber la fracción de éste que se absorbe y utiliza por el organismo, es decir, su biodisponibilidad. Los métodos utilizados para la determinación de la biodisponibilidad mineral se dividen en dos grandes grupos: métodos *in vivo* (con seres humanos o animales) e *in vitro*(5, 9).

Métodos *in vivo*

En los seres humanos, el método del balance químico fue el primero en utilizarse antes de que el uso de radioisótopos fuera introducido y consiste en evaluar la diferencia entre la cantidad ingerida y excretada de un determinado mineral durante un cierto periodo de tiempo. Este método se ha utilizado para el estudio de la biodisponibilidad de calcio, hierro, cinc y cobre (9, 61).

Sin embargo, en la práctica, este método es insensible, impreciso y demorado, errores en la determinación de la cantidad ingerida o excretada pueden ocasionar errores significativos en la estimación de la absorción. Uno de los principales inconvenientes de la técnica radica en diferenciar en la muestra de heces, el elemento no absorbido de origen dietético del procedente de la excreción endógena (9).

Lo ideal de la realización de estudios *in vivo* con humanos, es el uso de modelos animales para predecir la biodisponibilidad es más práctico que los estudios en seres humanos con isótopos ya que los ensayos clínicos son caros, laboriosos y difíciles de llevar a cabo con precisión. Además, proporcionan datos limitados en cada experimento y requieren amplias precauciones y material sofisticado, que sólo está al alcance de escasos

laboratorios. Por tanto, junto a los estudios *in vivo* en humanos, los que utilizan animales de experimentación están sujetos a menores limitaciones. El principal problema de este tipo de ensayos radica en el hecho de que los resultados obtenidos no siempre son extrapolables debido a las diferencias existentes entre el metabolismo de los animales y el hombre (1, 9).

Métodos *in vitro*

Los métodos *in vitro* se caracterizan por ser métodos rápidos, menos costosos y que permiten mayor control sobre las variables experimentales; los más usados son los que se basan en técnicas de digestión simulada, cuyo objetivo es estimar el porcentaje de nutriente que es transformado en el intestino a una forma absorbible. La limitación más importante de estos métodos es que no pueden simular estados fisiológicos o algunas propiedades físico-químicas y respuestas adaptativas que influyen en la biodisponibilidad mineral, aunque cabe hacer mención que últimamente se han desarrollado métodos que tratan de corregir estas limitaciones y acercarse lo más posible a las condiciones de absorción del intestino delgado (1, 101).

La estimación *in vitro* de la biodisponibilidad de elementos minerales implica una digestión gastrointestinal simulada del alimento con pepsina-HCl a pH 2 y pancreatina-sales biliares a pH neutro, con incubación a tiempos determinados y posterior medida de la fracción de elemento soluble o de elemento dializado (9).

Estos métodos se basan en que la premisa que debe cumplir un mineral para ser absorbido es estar en forma soluble. Se clasifican de la siguiente manera:

Solubilidad

Determinan la cantidad de elemento soluble presente en el sobrenadante obtenido por centrifugación o filtración del digerido gastrointestinal del alimento (1, 9, 101).

Dializabilidad

Método planteado por Miller *et ál*, (1981), el cual consiste en dos pasos de la fase de la digestión, simulando la fase gástrica y la fase intestinal, incorporando una membrana de diálisis (de una membrana semi-permeable con un poro de peso molecular seleccionado) durante el proceso para simular una difusión pasiva a través de la mucosa intestinal y finalmente se determina el contenido del mineral dializado. Los métodos *in vitro* basados en la dializabilidad del elemento difieren de aquellos basados en la solubilidad en que incorporan un paso de difusión pasiva que permite diferenciar entre compuestos solubles de alto y bajo peso molecular. La biodisponibilidad de mineral es estimada por esta técnica considerando el porcentaje de mineral dializado como el porcentaje de mineral biodisponible (1, 9, 41).

Cultivo células Caco-2

Planteada por Fogh y colaboradores en 1977, las células Caco-2 es la línea celular más utilizada, precedente de adenocarcinoma de colon humano y presenta muchas de las características propias del enterocito humano. La técnica consiste en depositar el “producto” obtenido de la digestión realizada en las técnicas anteriores en un cultivo de células Caco-2 (1, 19, 21).

No obstante, la utilización de este modelo para el estudio de la captación y transporte de nutrientes a nivel intestinal también presenta inconvenientes (Ekmekcioglu *et al.* 1999).

Esta línea celular, puede presentar un metabolismo diferente al esperado y mostrar una mayor resistencia transepitelial. Además, tiene una baja tasa de transporte de nutrientes en relación a los enterocitos normales. Probablemente, estas limitaciones con respecto a las condiciones *in vivo* se deben a una menor superficie de transporte si se compara con el intestino, la presencia en el mismo de diferentes especies celulares y la ausencia de regulación endocrina. Sin embargo, se le considera un modelo válido debido a las condiciones ya estandarizadas de los experimentos y a los resultados reproducibles (1, 19).

MÉTODO COLORIMÉTRICO FERROZINA

En la técnica *in vitro* de Fe dializable (Argyri et ál., 2009), al final de la digestión al líquido obtenido se evalúa la cantidad de Fe presente (Fe dializable). Este hierro se puede determinar ya sea por medio de espectrometría de absorción atómica (EAA) o por medio de espectrofotometría a través de técnicas colorimétricas. La ventaja de ésta última es que permite determinar la cantidad de Fe (II), Fe (III) y por ende hierro total, caso contrario con EAA, en la cual sólo se determina la cantidad de Fe total (1).

Desde finales del siglo XIX, las moléculas orgánicas que contienen cierta configuración atómica, $-N=C-C=N-$ (figura 6), se han conocido por reaccionar como ligandos bidentados con ciertos iones de metales, como iones ferrosos, cuprosos y cobaltosos, para dar especies complejas coloreadas. Se ha notado que los complejos con el ion ferroso generalmente dan un color más intenso con respecto a los otros iones. Esta configuración atómica se ha conocido con el nombre de grupo feroin. Se ha sintetizado durante los pasados siglos, 100 compuestos conteniendo este grupo, la mayoría de los cuales han demostrado su habilidad de formar complejos con el ion ferroso. Sin embargo, muchos de estos complejos son débilmente coloreados, inestables bajo condiciones fisiológicas normales ó son formados sobre un estrecho rango de pH (1, 58).

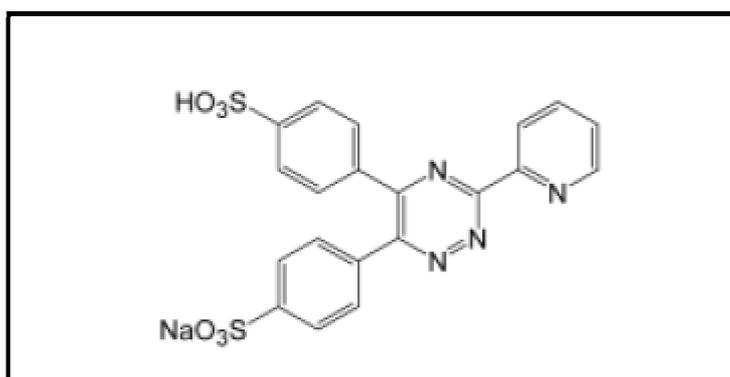


FIGURA 6. ESTRUCTURA DE LA FERROZINA
FUENTE:STOOKEY, 1970.

Para evaluar el contenido de Fe dializable se ha utilizado la ferrozina [(3-(2-piridil)-5,6-bis(4-ácido fenil-sulfónico)-1,2,4- triazina)], reactivo propuesto por Stookey (1970) por

superar las debilidades de otros ligandos bidentados. La ferrozina es un cromógeno que reacciona con el Fe divalente en una relación de tres moléculas de ferrozina por una de hierro ferroso para formar un complejo estable color púrpura (figura 7) que absorbe a una longitud de onda máxima de 562 nm, en un rango de pH de 4 a 9 con un coeficiente de absorción molar de 30,000 L/mol cm (figura 8) (1).

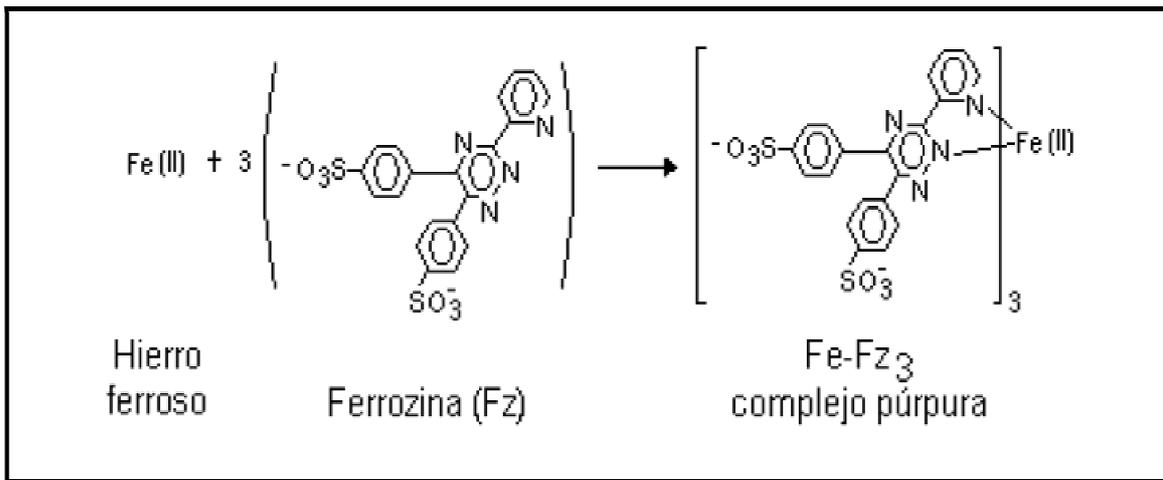


FIGURA 7. COMPLEJO FORMADO ENTRE FERROZINA Y Fe (II)
FUENTE:HARRIS, 1992.

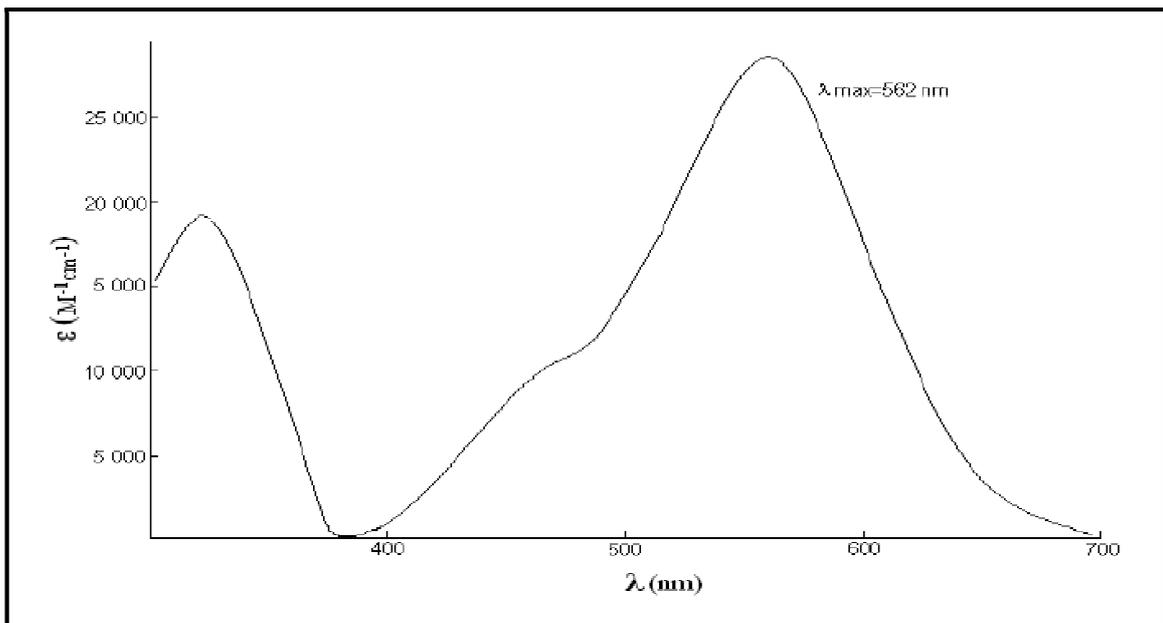


FIGURA 8. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DEL COMPLEJO Fe-Fz₃.
FUENTES:HARRIS, 1992.

Con el fin de medir el contenido de hierro dializable *in vitro* por el método de ferrozina se requiere de tres pasos:

- 1) Reducción de Fe (III) a Fe (II), garantizando que todo el hierro presente esté en su forma ferrosa. Para ello, se suele utilizar el clorohidrato de hidroxilamina (NH₂OH + Cl⁻) como agente reductor del Fe (III) (Rao y Somidevamma, 1959).



- 2) Precipitación de proteínas adicionando ácido tricloroacético (Cl₃CCO₂H). Las proteínas se eliminan por centrifugación.
- 3) Formación del complejo Fe-Fz₃ del tratamiento de un exceso de ferrozina con un volumen conocido del líquido sobrenadante del paso 2. También se agrega una solución tampón para mantener el pH en un intervalo en el que la formación del complejo Fe-Fz₃ sea cuantitativa (1).

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR

La espectroscopia de absorción molecular en la región UV y visible ó espectrofotometría de absorción molecular, tiene una amplia aplicación en la identificación y determinación de una gran cantidad de especies absorbentes inorgánicas, orgánicas y bioquímicas. Su principal aplicación es en análisis cuantitativo y es uno de los métodos preferidos en los laboratorios químicos y clínicos. Se caracteriza por su sensibilidad, exactitud, precisión razonable, rapidez y conveniencia (1, 56).

Con el propósito de evaluar cuantitativamente una muestra, en la mayoría de las técnicas espectrofotométricas se hace una curva de calibración con el método de los estándares externos con el fin de determinar el factor de proporcionalidad entre absorbancias y concentración en las mismas condiciones y con los mismos instrumentos empleados en la muestra. Para ello, se prepara una serie de soluciones patrón del analito,

se mide su absorbancia y se construye una curva de calibración de absorbancia frente a concentración y se determina la ecuación de la regresión lineal (1, 56).

Los espectrofotómetros son los equipos utilizados para medir la absorbancia de la luz. Actualmente, han tenido mucha acogida los equipos lectores de microplatos que combina el rendimiento, velocidad y comodidad de los formatos de un microplato con el desempeño de un espectrofotómetro. Estos equipos se basan en una espectrofotometría vertical, como se puede apreciar en la figura 9 (1).

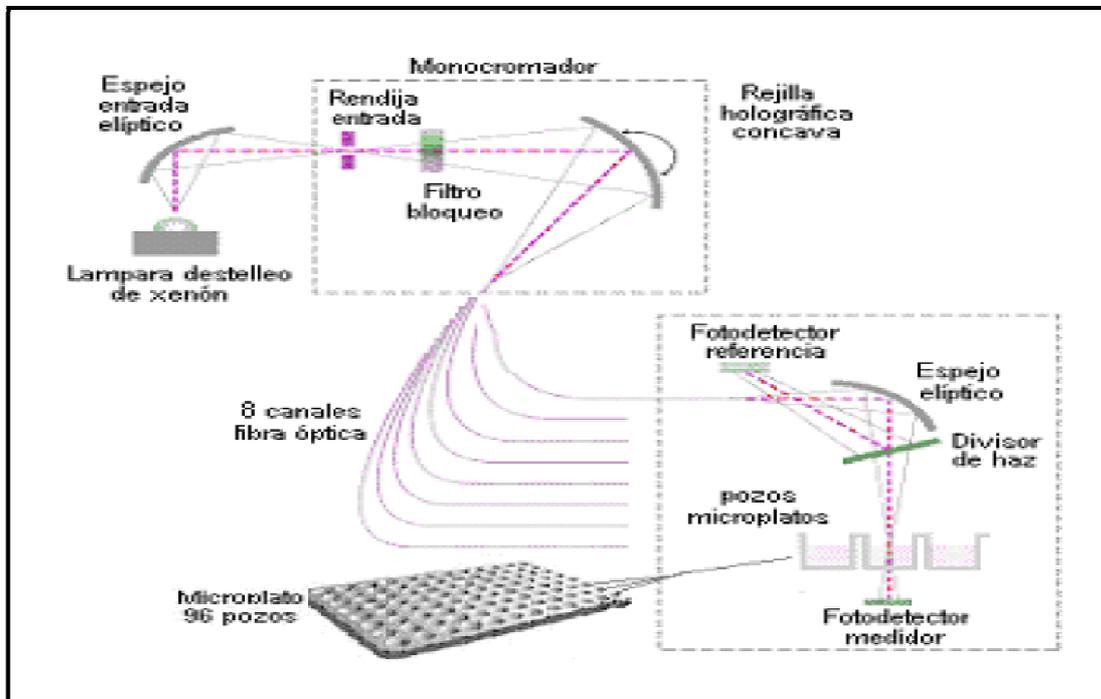


FIGURA 9. DISEÑO ÓPTICO DE ESPECTROFOTOMETRÍA VERTICAL DE LOS LECTORES DE MICROPLATOS
FUENTE: ARAGON, 2009.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La **espectroscopia de absorción atómica** (a menudo llamada EAA o AA) es un método instrumental de la Química analítica que determina una gran variedad de elementos al estado fundamental como analitos (85).

Este método consiste en la medición de las especies atómicas o analitos por su absorción a una longitud de onda particular. Basado en que la especie atómica se logra por atomización de la muestra, la técnica más usada es la de absorción atómica con flama o llama, utilizando comúnmente un nebulizador pre-quemador (o cámara de nebulización) para crear una niebla o diseminar en forma de aerosol la muestra y un quemador con forma de ranura que da una llama de aire acetileno u óxido nitroso-acetileno con una longitud de trayecto más larga. La niebla atómica es desolvatada y expuesta a una energía a una determinada longitud de onda emitida ya sea por una Lámpara de Cátodo hueco construida con el mismo analito a determinar o una Lámpara de Descarga de Electrones (EDL). Se da a notar que los distintos procedimientos para llegar al estado fundamental del átomo lo que diferencia las técnicas y accesorios utilizados (83, 84, 85, 86).

La temperatura de la llama es lo bastante baja para que la llama de por sí no excite los átomos de la muestra de su estado fundamental. La excitación de los átomos del analito es hecha por el uso de lámparas que brillan a través de la llama a diversas longitudes de onda para cada tipo de analito (83, 85, 86).

Hoy en día también se utiliza frecuentemente una mufla de grafito (u horno de grafito) para calentar la muestra a fin de desolvatarla y atomizarla, aumentando la sensibilidad.

El método del horno de grafito puede también analizar algunas muestras sólidas o semisólidas. Debido a su buena sensibilidad y selectividad, sigue siendo un método de análisis comúnmente usado para ciertos elementos traza en muestras acuosas (y otros líquidos)(83, 84, 85, 86).

INSTRUMENTACIÓN

La figura 10, muestra en forma esquemática los componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica. Pero la naturaleza de algunos de estos elementos es diferente y será lo que veremos en seguida.

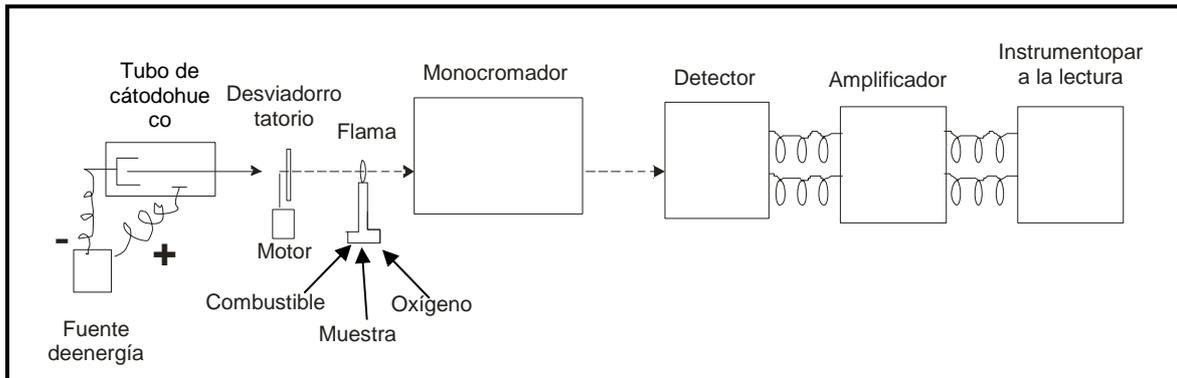


FIGURA 10. COMPONENTES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA. (LA FLAMA SE PUEDE REEMPLAZAR POR UN HORNO).
FUENTE:COOL, 2006.

1.4.4.3 Efectos en la biodisponibilidad de las proteínas

El ácido fítico también puede formar complejos insolubles con proteínas y almidón. La interacción de ácido fítico y proteínas es de tipo iónico y dependiente del pH. A pH bajo el ácido fítico se une con los residuos básicos (grupo amino) de la lisina, arginina e histidina formando complejos insolubles, como se muestra en la figura 11. A pH neutros dichos complejos se solubilizan y es el grupo carboxilo (COO^-) quien se une al ácido fítico utilizando como intermediarios cationes multivalentes. Los complejos formados cambian la estructura de las proteínas reduciendo su solubilidad, digestibilidad y funcionalidad. El ácido fítico también puede inhibir la acción de ciertas enzimas tales como α -amilasas, proteasas como la tripsina y pepsina y lipasas formando complejos mediante mecanismos aún desconocidos. Probablemente, el nutriente más afectado por esta inhibición enzimática sea la proteína y en particular, ciertos aminoácidos. Además, el AF puede unirse también al almidón, bien directamente a través de puentes de hidrógeno o indirectamente mediante las proteínas a las que se asocia. (38, 40).

La existencia de una correlación negativa ($p < 0,05$) entre el AF y la digestibilidad proteica ha sido puesta de manifiesto en varios alimentos. Se atribuye el efecto negativo de los fitatos en el metabolismo proteico más que a la formación de un complejo fitato-proteína a la capacidad de inhibir enzimas digestivas. (38).

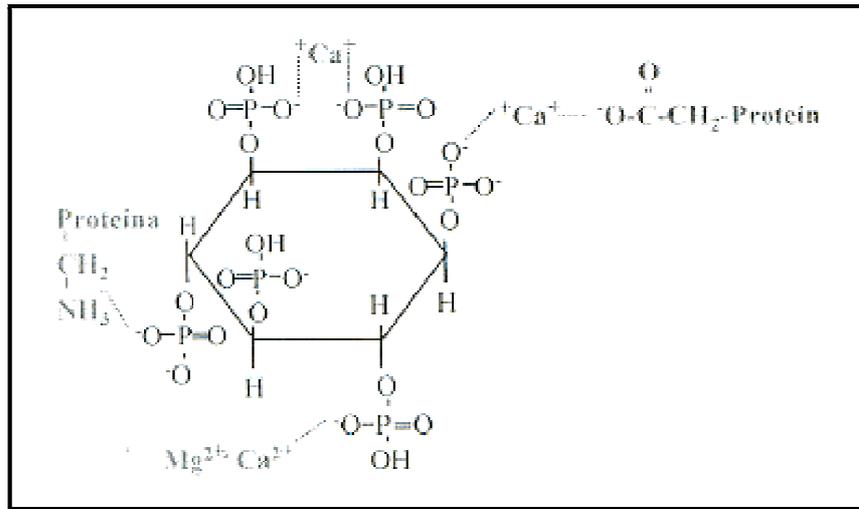


FIGURA 11. INTERACCIÓN DEL AF CON PROTEÍNAS Y MINERALES
FUENTE: MARTINEZ, 2002

1.4.4.3.1 DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO

Hsu

El proceso digestivo es un conjunto de fenómenos cuyo objetivo es proporcionar nutrientes, y está compuesto por el proceso de ingestión de alimento, la secreción de ácido clorhídrico y de enzimas en el tracto gastrointestinal, la hidrólisis de macromoléculas, la absorción de nutrientes y la excreción de productos de desecho. La combinación de los procesos de digestión y absorción es conocida como la digestibilidad de un nutriente, y está íntimamente relacionada con el valor nutritivo de los alimentos.

Una forma de evaluar la calidad de la proteína es considerar el grado de digestibilidad de esta, por ello se realiza un análisis por medio de un método *in vitro*, donde se toma como referencia los protocolos de Hsu y McDonough. Este método de determinación de digestibilidad de proteína se halla a través de la simulación de un proceso digestivo con enzimas de origen animal, como son: Tripsina, Quimotripsina y Peptidasa Pancreática, mediante el descenso controlado del pH (cada 10 min.), el cual es causado por la liberación de aminoácidos con grupos carboxílicos presentes en la proteína debido a la acción de enzimas proteolíticas (25).

Para la medición de la digestibilidad de la proteína se debe hacer un análisis previo para determinar el contenido de nitrógeno de las muestras a analizar (25).

1.4.4.4 Efectos farmacológicos

Del AF a bajas concentraciones, ha sido descrita bibliográficamente la existencia de efectos positivos, entre los que se pueden citar: retardo de la digestibilidad del almidón y disminución de la respuesta a la glucosa en sangre, hipocolesterolemia, prevención de cálculos renales, control de la caries dental y cáncer, y mejora de la capacidad de captación de oxígeno de los glóbulos rojos. No obstante, el organismo humano no lo fabrica, de manera que sólo se puede adquirir a través de la alimentación. (38, 72, 103).

Pese a que al ácido fítico ha sido cuestionado nutricionalmente por su capacidad para unirse a minerales evitando así su absorción, hoy se reconoce que esta propiedad resulta beneficiosa cuando los fitatos se unen a metales tóxicos como el cadmio, aluminio o plomo que si pasan al torrente sanguíneo pueden ocasionar daños irreversibles en el sistema digestivo y al sistema nervioso central. (72, 91).

Estudios epidemiológicos y estudios en ratas sugieren también un posible papel preventivo del AF frente a diversas patologías cardíacas, derivado del control de la hipercolesterolemia y la arteriosclerosis en el hombre. En el intestino, actúa incrementando la acción de células que intervienen en el sistema inmune; se une al colesterol y triglicéridos reduciendo su absorción y por lo tanto, su concentración en sangre; al asociarse a los nutrientes ingeridos permite una rápida formación de heces lo cual impide la constipación y ayuda a regularizar el ritmo de evacuación intestinal. (38, 67, 91).

Al mismo tiempo, el ácido fítico tiene grandes cualidades antioxidantes, ya que impiden la formación de radicales libres responsables del daño oxidativo que puede ser causante de enfermedades degenerativas como el cáncer. (91).

En el riñón, previene la formación de cálculos renales (piedras o cristales) al inhibir la cristalización de sales de calcio, como fosfatos u oxalatos, y evitar su depósito. (91, 103).

Como podemos ver, el ácido fítico o fitatos tiene sus pros y sus contras, por un lado ofrece enormes beneficios para la salud y por otro, al consumirlo en exceso, podría dificultar labiodisponibilidad o aprovechamiento de vitaminas, minerales y proteínas necesarios para mantener nuestra salud.

1.4.4.5 Efecto de los procesos

Una cuestión clave a tener en cuenta para entender el efecto antinutricional del AF sería conocer cuánto fitato está aun disponible tras el procesado. Si consideramos la fuerte afinidad del AF hacia varios cationes y el tipo de interacciones que supone su asociación con proteínas de la dieta, así como el efecto del procesado de los alimentos, la degradación térmica de los esteresinositol y el pH, habría que esperar que quedara poco fitato libre que interaccionara con enzimas y sistema digestivos para causar una influencia significativa. Por otro lado hay que tener en cuenta que estudios anteriores han mostrado que en presencia de minerales como Ca^{2+} o Mg^{2+} , la inhibición *in vitro* de las enzimas podría ser mucho menor. (31, 38, 100).

Procesos que pueden activar a las fitasas enzimas encargadas de hidrolizar el ácido fítico, aumentando la biodisponibilidad de minerales y proteínas. (38).

1.4.4.5.1 PROCESOS

En este proyecto se han aplicado ciertos procesos con el fin de evaluar el efecto que estos tienen sobre el AF, los procesos que se utilizaron fueron: escarificado, laminado, tostado, malteado y expandido.

➤ **Escarificado**

Es un proceso por **vía seca**, que consiste en descascarar o quitar la cáscara del grano de cereal y se basa en principios abrasivos, de fricción entre granos por acción mecánica y de impacto. (8)

➤ **Laminado**

El laminado es un proceso mecánico que se realizará a partir del grano perlado, acondicionado y en el cual se prensa o se aplasta el grano mediante un sistema de rodillos calientes a 200°C (8).

➤ **Tostado**

Para tostar el grano este se introduce en un tambor que trabaja con aire caliente. La temperatura máxima del aire es de 330°C. El producto se transporta a través del tostador en un lecho de aire fluidificado. Se sopla el aire al transportador creando un colchón de aire que suspende el producto, de manera que este gira y cae suavemente a medida que es impulsado hacia delante por un transportador que no tiene perforaciones que podrían taparse con polvo. El grado de tostado se puede controlar con toda precisión ajustando la temperatura del aire y la velocidad del transportador y del aire para producir burbujas y color uniformes, así como exacto control de humedad aún a diferentes ritmos de producción. (8)

El enfriamiento del producto se consigue dentro del mismo secador, que tienen una parte de la superficie (25-33 % del total) prevista para enfriar el producto. Los productos salen normalmente del secador-enfriador con una temperatura de 5-8°C sobre la ambiental. (8)

➤ **Malteado**

El **Malteado** es un proceso físico-químico, durante el cual los granos desarrollan y activan sus sistemas enzimáticos y modifican suficientemente sus reservas alimenticias. Su finalidad es la obtención de malta, lo que se puede hacer a partir de cualquier grano que se someta a una germinación controlada, la cual se suspende en una etapa adecuada mediante el secado.

El proceso de malteado lo podemos dividir en tres fases: el remojo, la germinación y el secado.

El remojo es el proceso mediante el cual el grano de cereal absorbe suficiente cantidad de agua al suministrarla. Como resultado de esto, las enzimas comienzan a activarse y se inicia el proceso de germinación. Se incrementa la respiración del grano y, por tanto, las necesidades de oxígeno. (8).

La germinación es el proceso donde en el cereal procede a aparecer la raicilla, indicativo que el embrión del cereal se está desarrollando y creciendo realizando las modificaciones necesarias para que se produzcan las enzimas, pues el principal objetivo de la germinación es la producción de enzimas (8).

El secado es el proceso que tiene como objetivos: reducir el contenido de agua del grano, detener el proceso de germinación y formar componentes de color y sabor. Esto genera un producto estable previniendo futuros desarrollos y modificaciones al grano. Con este proceso se preservan las enzimas y se desarrollan y estabilizan las propiedades de sabor y color de la malta. En este proceso se remueven las raicillas, ya que contienen propiedades no deseadas dentro de la elaboración de cerveza. (8).

➤ **Expansión o Inflado**

La expansión es la combinación de dos procesos: La cocción termomecánica HTST y la cocción hidrotérmica. Esta última hace que se origine un aumento de presión dentro de la cámara de expansión, iniciándose el aumento de presión, al alcanzarse se tienen temperaturas mayores a los 100°C antes de la descarga y valores máximos a 170°C. El punto de quiebre de la presión se tiene a la salida del producto de la cámara expansora; el gradiente de presión existente entre la cámara y el ambiente, hace que se produzca una caída de presión al momento de abrir la cámara, lo que provoca la expansión del grano entero; temperaturas mayores producirían mayor dextrinización y por ende debilitamiento de la estructura, incidiendo en la disminución de la expansión (fotografía 2)(8, 45).

El índice de expansión se incrementa a medida que baja la humedad de alimentación, alcanzado un máximo a 14%. A niveles menores de humedad el incremento de la presión y la degradación del almidón afectan la expansión.

Las características reológicas del almidón tienen más influencia en la expansión que la vaporización. La expansión es proporcional al contenido de almidón (1,4).



FOTOGRAFÍA 2. EXPANSOR DE GRANOS DEL INIAP

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental Santa Catalina INIAP, en los laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad y en el laboratorio de Calidad Nutricional del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT.

2.2 OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se utilizaron líneas avanzadas y/o variedades de cebada, que fueron proporcionadas por el Programa Regional de Cebada y Trigo (INIAP). Las muestras fueron previamente molidas para su posterior análisis, de las cuales se seleccionaron cuatro muestras de acuerdo a la concentración de ácido fítico y a su disponibilidad, las mismas se sometieron a procesos de escarificado, laminado, tostado, malteado y expandido; finalmente se realizaron los análisis respectivos.

2.2.1 CUANTIFICACIÓN DE FITATOS TOTALES POR COLORIMETRIA

2.2.1.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Molino

- Balanza analítica
- Tubos Falcón de 50 y 15 mL
- Centrifuga
- Equipo de filtración al vacío
- Pipetas
- Espectrofotómetro BIOTECK (uQuant)
- Agitador
- Tubos eppendorf

2.2.1.2 REACTIVOS

- Estándar de ácido fítico (90%)
- Ácido clorhídrico 0.65 M
- Cartuchos de intercambio iónico AG 1-X8 (BioRad)
- Reactivo de Wade
- Ácido clorhídrico 0.2 M
- Cloruro de sodio

2.2.1.3 PROCEDIMIENTO

- **Extracción de fitatos:**

Se pesa 0.5 g de cada una de las muestras en tubos Falcón.

Se agrega 20 mL de HCl 0.65 M y se agita vigorosamente durante dos horas.

Transcurridas las dos horas de agitación las muestras se centrifugan a 6000 rpm durante un periodo de 15 min, posteriormente se filtran.

Los extractos filtrados se recolectan en tubos falcón de 50 mL.

- **Purificación de fitatos:**

Para la purificación de las muestras, de los extractos filtrados se toman alícuotas de 1.5 mL en tubos Falcón y se diluyen con agua a 15 mL.

Seguido se acoplan los cartuchos de intercambio iónico AG 1-x8 (Biorad) al Visiprep TM Solid Phase Extraction Vacuum Manifold y se ajusta a una presión de 5 mmHg con ayuda de una bomba de vacío.

Los cartuchos se acondicionan con 10 mL de solución de HCl 0.2 M.

Se cargan los extractos de las muestras en los cartuchos de intercambio iónico a un flujo de 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ aproximadamente, sin dejar secar la fase estacionaria del cartucho.

Una vez que se ha cargado la columna, se lava con 10 mL de solución de NaCl 0.07M para la eliminación de los fosfatos y de inositol fosfato poco fosforilados.

Los fitatos purificados se eluyen con 10 mL de NaCl 0.7M y se recolectan en tubos falcón de 15 mL.

- **Cuantificación de fitatos:** para la cuantificación se realiza el siguiente procedimiento:

Se prepara el reactivo de Wade (RWn), el cual contiene 0.030% de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 0.30% de Ácido 5-sulfosalicílico dihidratado.

Luego, en tubos eppendorf, se coloca 1,125 mL del extracto de fitatos purificados y se adiciona 0,375 mL del reactivo de Wade.

Se realizan las lecturas a 500 nm.

Para la concentración total de fitatos se tuvo en cuenta el factor de dilución total del proceso.

- **Curva de calibración**

Se preparó 2 soluciones stock a partir de ácido fítico comercial.

Se preparan 7 patrones de ácido fítico a diferentes concentraciones a partir de las soluciones stock de la siguiente manera:

| Volumen final 20 mL | | | |
|---------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|
| Estándar | Stock [mg/L] | Vol. Stock (mL) | Conc. Final (mg/L) |
| 1 | 100 | 1.0 | 5 |
| 2 | 100 | 2.0 | 10 |
| 3 | 100 | 4.0 | 20 |
| 4 | 500 | 1.6 | 40 |
| 5 | 500 | 2.4 | 60 |
| 6 | 500 | 3.2 | 80 |
| 7 | 500 | 4.0 | 100 |

Se tomó una alícuota de 1,125 mL de cada patrón y se adicionó 1 mL de reactivo de Wade.

Luego se realizan las lecturas a 500 nm en un espectrofotómetro. Cada estándar se prepara y se mide por triplicado (anexo 1).

- **Para reutilizar los cartuchos:**

Se lava de la siguiente manera:

10 mL de NaCl 1M

10 mL de HCl 0.2M.

10 mL de NaCl 1M.

10 mL de NaCl 0.7M

2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO* DE MINERALES

En el presente trabajo se utiliza la dializabilidad como criterios evaluadores de la biodisponibilidad mineral de diferentes líneas avanzadas y/o variedades de cebada. Cabe recalcar que para la cuantificación de la BD de los minerales analizados se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, excepto para el caso de Fe-BD.

Para evaluar Fe biodisponible se ha seguido la misma técnica *in vitro* mediante dializabilidad y se ha cuantificado por espectroscopia de absorción molecular en la región UV y visible ó espectrofotometría de absorción molecular, a través de un método colorimétrico.

2.2.2.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Membranas de diálisis (Spectrapore Molecular Weightcut-off 6000-8000)
- Vasos de precipitación
- Pipetas
- Erlenmeyers
- Agitadores magnéticos
- Tubos de vidrio
- Balanza
- Baño maría
- Vortex
- Dilutor
- Espectrofotómetro de absorción atómica

2.2.2.2 REACTIVOS

- α -amilasa
- Pepsina
- Pancreatina
- Extracto de Bilis
- Buffer PIPES
- Ácido clorhídrico, HCl
- Bicarbonato de sodio, NaHCO₃ 0.1N
- Hidróxido de sodio, NaOH 6N
- Ácido nítrico, HNO₃
- Ácido perclórico, HClO₄

2.2.2.3 PROCEDIMIENTO

- **Digestión in vitro:**

Se pesa 5 g de muestra en un vaso de 100 mL y se agrega 50 mL de agua 18 M Ω .

Cada muestra se incuba con 5 mL de una solución de α -amilasa al 3% en un baño María durante 30 minutos a 37°C con agitación.

Se ajusta el pH a 2.8 con HCl 6N.

Se agrega 2mL de la solución de pepsina-HCl (16 g/100 mL en HCl 0,1N) y se incubó por un período de 2 horas a 37°C con agitación.

De cada muestra se toma 15 mL y se coloca en las bolsas de diálisis, las mismas que se ubican en vasos de precipitación que contenían 18.75mL de buffer PIPES 0.15 M, ajustado a pH 6.3 con HCl.

Se colocan nuevamente las muestras en un baño María a una temperatura de 37°C durante 1 hora.

Se adiciona cuidadosamente 3.75 mL de una mezcla de bilis-pancreatina (2,5% bilis y 0,4% pancreatina en NaHCO₃ 0,1N) dentro de la bolsa de diálisis, se incuba el conjunto durante 2 horas a 37°C.

Al finalizar el periodo de incubación, las muestras se retiran del baño María. Las bolsas de diálisis se remueven de los vasos y son llevadas a sequedad, entonces la mezcla dentro de la bolsa de diálisis (retenido) y la solución contenida en el vaso (dializado) son debidamente separadas y codificadas.

- **Cuantificación del mineral biodisponible**

Una vez finalizado el periodo de digestión in vitro se procede de la siguiente manera:

La solución contenida dentro de la bolsa de diálisis llevada a sequedad y mineralizada con una mezcla de HNO₃ y HClO₄ (10:10), finalmente se lleva a un volumen de 100 mL con H₂O (18 MΩ) para su lectura respectiva.

El contenido mineral de las muestras se determina por espectroscopía de absorción atómica (anexo 2).

2.2.2.4 CÁLCULO

Calculo de la concentración:

$$\text{ppm} = \frac{\text{Absmuestra} - \text{intercepto}}{\text{Pendiente de la curva}}$$

Calculo del porcentaje de mineral dializado:

$$\text{Dializabilidad \%} = \frac{\text{mineral en el dializado}}{\text{mineral total en muestra}} * 100$$

2.2.3 DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO* DE HIERRO BIODISPONIBLE POR COLORIMETRÍA

2.2.3.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Membranas de diálisis (Spectrapore Molecular Weightcut-off 6000-8000)
- Vasos de precipitación
- Micropipetas
- Multiplatos
- Anillos para membrana de diálisis
- Balanza analítica
- Baño María
- Vortex
- Espectrofotómetro BIOTEK (uQuant)

2.2.3.2 REACTIVOS

- α -amilasa
- Pepsina
- Pancreatina
- Extracto de Bilis
- Buffer PIPES 0.15 M (pH: 6.3)
- Buffer HEPES 0.3 M (pH: 7.5)
- Àcido clorhídrico

- Ácido tricloroacético
- Hidroxilamina
- Ferrozina (5 mg/mL)
- Bicarbonato de sodio, NaHCO₃ 0.1N
- Solución stock FeCl₃.6H₂O (100 mg/L en HCl 0.01M)

2.2.3.3 PROCEDIMIENTO

- **Digestión *in vitro*:**

Se pesa 1 g de muestra en tubos Falcón de 50 mL.

Se agrega 10 mL de agua 18MΩ.

Se ajusta el pH a 2.8 con HCl 6 M.

Se toma 2 mL de la muestra diluida y se coloca en los posillos de los multiplatos, seguidamente se adiciona 0.10 mL de la solución de pepsina-HCl (4 g/100 ml en HCl 0,1N) y se incuba en un baño María con agitación, por un periodo de 2 horas a una temperatura de 37°C.

Después de 2 horas de incubación, se retiran los multiplatos del baño agitador y se destapan cuidadosamente evitando derramar el contenido.

Se introdujo un anillo a cada orificio del plato, el cual debe contener la membrana de diálisis sujeta con una banda elástica.

Posteriormente se adiciona 2 mL de buffer PIPES 0.15 M (pH: 6.3) sobre cada membrana. La adición del buffer de PIPES hace que el pH de la muestra se incremente gradualmente de 2.8 a 6.0.

Se colocan nuevamente las muestras en el baño María a una temperatura de 37°C por un periodo de 30 minutos.

Pasado este tiempo, los multiplatos se retiran del baño agitador, se destapan cuidadosamente para evitar derramar el contenido. Los anillos con la membrana de diálisis se levantan cuidadosamente y se adiciona 0.5 mL de la solución de pancreatina + extracto de bilis (0.05 g de pancreatina y 0.3 g de extracto de bilis en 25 mL de NaHCO₃ 0.1M), en la parte inferior.

Nuevamente los multiplatos fueron tapados, sellados y llevados a incubación en el baño agitador por un periodo de 2 horas a una temperatura de 37°C.

Al finalizar el periodo de incubación, los anillos con las membranas se removieron de los multiplatos; entonces, tanto el líquido sobre la membrana (dializado) como el líquido del multiplato (retenido) se colocaron en tubos eppendorf separados y debidamente marcados (anexo 3).

- **Curva de Calibración**

Se preparó un estándar de 10 mg/L a partir de una solución stock de 100 mg/L. Y la curva de calibración se preparó de la siguiente manera:

| Curva de Calibración (1mL) | | |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------|
| [Fe] (mg/L) | Fe (10 mg/L) alicuota (uL) | HCl 0.01M alicuota (uL) |
| 0 | 0 | 1000 |
| 0.5 | 50 | 950 |
| 1.5 | 150 | 850 |
| 2.5 | 250 | 750 |
| 3.5 | 350 | 650 |
| 4.5 | 450 | 550 |
| 5.5 | 550 | 450 |

Una vez realizados los puntos de la curva, se adiciona 500 uL del reactivo Reducing (ácido tricloroacético 20 g, hidroxilamina monohidratada 10 g, HCl concentrado 32% 20 mL y agua 18 MΩ 200 mL), en cada uno de los puntos de la curva llevando a un volumen final de 1.5 mL.

El mismo procedimiento se realiza para las muestras.

- **Cuantificación de hierro biodisponible**

Una vez finalizada la digestión *in vitro* se realiza el siguiente procedimiento para la cuantificación de hierro de las muestras:

Al final del periodo de simulación gástrica, se obtienen dos líquidos (dializado y retenido); el líquido dializado se transfiere cuidadosamente a tubos eppendorf de 1.5 mL, debidamente marcados.

Luego se toma 1 mL de cada una de las muestras en tubos eppendorf de 1.5 mL.

Se adiciona 0.5 mL del reactivo reducing y se deja la muestra por 12 horas en la oscuridad y a temperatura ambiente (se observa la formación de un precipitado).

Las muestras se centrifugan a 6800 rpm por un periodo de 15 min.

El sobrenadante que se obtuvo se transfiere cuidadosamente a tubos eppendorf de 1.5 mL debidamente marcados.

Para la lectura de hierro en las muestras, se toma 0.1 mL de cada muestra, patrones y estándares, y se colocan en los multiplatos de 96 pozos.

Posteriormente se adiciona a cada uno 0.225 mL del reactivo de color (11.11 mL de solución de Hepes+ 88.88 mL de solución de ferrozina en 100 mL de H₂O 18 MΩ), se

observó un viraje de color de transparente a violeta más fuerte dependiendo de las muestras analizadas.

Después de la adición del reactivo de color, se agita por 1h las muestras para su posterior lectura de absorbancia a una longitud de onda 562nm.

Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro BIOTEK uQuant (anexo 3).

2.2.3.4 CÁLCULOS

Cálculo de la concentración de hierro

$$[\text{Fe}]_{\text{ppm}} = \frac{\text{Absmuestra} - \text{intercepto}}{\text{Pendiente de la curva}}$$

Cálculo de el porcentaje de hierro dializable

Para calcular el porcentaje de hierro dializable, se realizó previamente la determinación de hierro total de la muestra. El porcentaje de hierro dializable, se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Dializabilidad \%} = \frac{\text{Fe en dializado}}{\text{Fe total en muestra}} * 100$$

2.2.4 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE Hsu

2.2.4.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Tubos falcón
- Balanza analítica

- Baño María
- pHmetro

2.2.4.2 REACTIVOS

- Suspensión de caseína
- Tripsina
- Quimotripsina
- Peptidasa
- Hidróxido de sodio 0.2 N
- Ácido clorhídrico 0.075 N

2.2.4.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y SOLUCIONES

- **Preparación de la solución de Proteína (patrón caseína)**

Se prepara la suspensión de proteína acuosa (caseína de sodio), a una concentración de 10 mg N/mL, a esta suspensión se le ajusta el pH a 8.0 con 0.1 N HCl y/o NaOH y se agita para obtener homogeneidad.

La suspensión de caseína se conserva refrigerada, sin embargo para el análisis se acondiciona a temperatura ambiente.

Es preciso tener en cuenta, que el contenido de nitrógeno en la caseína es 845.08 g/mol.

- **Preparación de la solución multienzimática**

Se prepara una solución multienzimática, de tripsina 2 mg/mL, quimotripsina 2.24 mg/mL y peptidasa 0.51 mg/mL.

Para preparar 25 mL de la solución multienzimática, se pesan las siguientes cantidades y se enrasó con agua 18 MΩ:

0.056 g Quimotripsina 2.24 mg / mL

0.0127 g Peptidasa 0.51 mg / mL

0.050 g Tripsina 2.00 mg / mL

La solución multienzimática se mantuvo en un baño de hielo y su preparación se realizó a diario y se comprobó su actividad usando una suspensión acuosa de caseína desodio.

2.2.4.4 PROCEDIMIENTO

- **Medición de la digestibilidad de proteína**

Para la medición de la digestibilidad de la proteína se realiza un análisis previo para determinar el contenido de nitrógeno de las muestras a analizar. Seguido de este análisis, se toma las muestras por triplicado y se determina su digestibilidad de la siguiente manera:

Se pesa en tubos Falcón, una cantidad de muestra conteniendo 10 mg de Nitrógeno y se disuelve en 2.5 mL de agua 18 MΩ.

Luego se adiciona 2.5 mL de NaOH 0.2 N y se incubala solución por un periodo de 30 minutos en un baño de agua a una temperatura de 37°C.

Transcurrido los 30 minutos, se agrega 5.0 mL de HCl 0.075N a la solución.

Se ajusta el pH a 8.0.

Se mantiene la solución a una temperatura de 37°C.

Manteniendo el pH y la temperatura en los niveles mencionados, se agrega 2 mL de la solución multienzimática a cada una de las muestras, registrándose un rápido descenso del pH, el cual es causado por la liberación de aminoácidos con grupos carboxílicos presentes en la proteína debido a la acción de enzimas proteolíticas.

El descenso del pH se registra automáticamente después de un periodo de 10 minutos usando un medidor de pH.

Finalmente se calcula el valor de digestibilidad a este tiempo (10 minutos) (anexo 4).

2.2.4.5 CÁLCULOS

Para calcular el porcentaje de digestibilidad de proteína, se utiliza la siguiente ecuación:

$$Y = 210.46 - 18.10 * X$$

Donde X es el pH a los 10 minutos y Y es el porcentaje de digestibilidad de la proteína.

- **Nota**

El patrón de caseína sirve como indicador de la actividad enzimática que posee la solución multienzimática. En la literatura se encuentra que la caseína tiene una digestibilidad aproximadamente del 96%, con base en este dato se evalúa si la solución tiene una buena actividad enzimática.

2.3 SELECCIÓN DE MUESTRAS DE ACUERDO AL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y A SU DISPONIBILIDAD PARA LA APLICACIÓN DE PROCESOS

Se seleccionaron un máximo de 4 muestras (líneas y/o variedades) con alto contenido de ácido fítico y según su disponibilidad en el Programa Regional de Cebada y Trigo. Se aplicó cinco procesos: escarificado, tostado, laminado, malteado y expandido. Posteriormente se determina y compara el contenido de ácido fítico con el de las muestras no procesadas, de la misma manera se procede con los demás análisis.

Los procesos aplicados se realizaron de la siguiente manera:

2.3.1 ESCARIFICADO

2.3.1.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Escarificador

2.3.1.2 PROCEDIMIENTO

El **escarificado** o perlado del grano se realizó durante 1 minuto en un equipo escarificador *Strong-Scott17810* de granos, el cual consta de un sistema de abrasión (pulido) que ayuda al desprendimiento de la cubierta (anexo 5).

2.3.2 LAMINADO

2.3.2.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Laminador

- Cacerola
- Estufa

2.3.2.2 PROCEDIMIENTO

Previo al proceso de lamido u hojuelado, el grano fue precocado en agua por 10 minutos con el fin de suavizar el endospermo y facilitar el prensado en un sistema de rodillos fríos. Las hojuelas obtenidas fueron sometidas a secado para su análisis posterior (anexo 6).

2.3.3 TOSTADO

2.3.3.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Paila
- Termómetro
- Cocina

2.3.3.2 PROCEDIMIENTO

El **tostado**, se lleva a cabo en un recipiente (paila) a una temperatura de 120-140°C, durante 15 minutos, hasta obtener un cambio visible del color en los granos (anexo 7).

2.3.4 EXPANDIDO

2.3.4.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Expansor
- Medidor de humedad
- Probeta
- Espátula
- Bolsas plásticas
- Gas

2.3.4.2 PROCEDIMIENTO

La expansión es la combinación de dos procesos: La cocción termomecánica y la cocción hidrotérmica.

El grano perfectamente limpio, a temperatura ambiente y humedad del 13-14%, fue sometido a un tratamiento previo de perlado.

El producto desprovisto de cubiertas, se acondiciona con calor seco durante unos minutos a una temperatura de 90 - 100°C. A continuación, se dosifica la alimentación del producto al cañón del expansor, se calienta aproximadamente a 210°C con vapor a alta presión. El cambio de presión se tiene a la salida del producto de la cámara expansora; el gradiente de presión existente entre la cámara y el ambiente, hace que se produzca una caída de presión al momento de abrir la cámara, lo que provoca la expansión del grano entero.

En función del grado de hinchamiento a obtenerse, la permanencia del grano en la cámara de tostado varía entre 1 a 3 minutos. La relación entre las variables tiempo de permanencia y expansión es directa, esto es, a mayor tiempo de permanencia se logra una mayor expansión del grano. Luego el cañón dispara el producto, el cual se recoge en una cámara receptora, la misma que de preferencia debe ser de acero inoxidable. El cereal se infla, perdiendo entre 3 a 4% de humedad (anexo 9).

2.3.5 MALTEADO

2.3.5.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Tanque de remojo con temperatura controlada a 16°C y cambio automático de agua.
- Germinador con temperatura controlada a 16°C y 100% de humedad relativa.
- Secador o tostador con programación de temperatura de 35 a 65°C y ventilador de aire.
- Medidor de humedad
- Envases para el tanque de remojo, germinador y secador.
- Balanza semi-analítica

2.3.5.2 PROCEDIMIENTO

El **malteado**, se obtendrá, mediante remojo por 48 h, germinación durante 4 días, a 100 % de humedad y 16°C, tostado final, siguiendo un programa de temperatura hasta alcanzar 70°C.

El material procesado será molido y tratado para la determinación de ácido fítico.

Para obtener la cebada malteada, el grano de cebada se somete a tres operaciones que son: remojo, germinación y secado, en las que se controla cuidadosamente la humedad, la temperatura y la aireación.

1. En el **remojo**, la cebada limpia se coloca en agua con temperatura controlada a 16 °C y cambio diario de agua, hasta que aumente el contenido de humedad hasta un 45%.
2. Posteriormente durante la **germinación**, la cebada remojada se coloca en el equipo de germinación con temperatura y humedad controlada (16°C – 100%) y

velocidad de movimiento de 4 rpm. La germinación alcanza su etapa cuando la plúmula ha desarrollado de una a tres cuartas partes del tamaño del grano y las raicillas 1.5 veces el mismo tamaño.

3. En el **secado**, la cebada germinada o malta se seca con aire caliente en el cual la temperatura varía de 35 a 65°C, con el objetivo de inhibir la activación enzimática y detener la germinación del grano. Finalmente la temperatura se disminuye a 30°C y se deja reposar el grano dentro del secador para atemperar y uniformizar la humedad del grano (anexo 8) (16).

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD DEL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA

Se analizaron 174 líneas avanzadas y/o variedades de cebada, las mismas que fueron proporcionadas por el Programa de Cereales de la Estación Experimental Santa Catalina (INIAP)

CUADRO 1. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA NATIVAS

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | P-valor | FT |
|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|------|
| Línea y/o variedad | 15,32 | 173 | 0,089 | 82,863 | 0 | 1,29 |
| Error | 0,37 | 348 | 0,001 | | | |
| Total | 15,69 | 521 | | | | |

El Cuadro 1, muestra que el contenido de ácido fítico varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de cebada, por lo que se aplicó la prueba de la diferencia significativa mínima (DMS) para identificar los genotipos con mayores contenidos de AF, recayendo este atributo en la variedad Cañicapa 2003, cuyo contenido en el grano crudo alcanzó un valor promedio de 1,24 %, (rango A), seguido de la línea RECLA 86/3/7085-B/ND4994.15//ND7556/4/AZAF, que presentó un contenido de 1,16 %, ubicándose en el segundo rango estadístico (B). Los restantes genotipos de cebada presentaron contenidos inferiores a 1,16 % y se ubicaron en rangos estadísticos inferiores (C-T) como se muestra en el anexo 10.

CUADRO 2. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA EL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA (g/100g muestras)

| LÍNEAS Y/O VARIEDADES | # MUESTRA | % AF | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|---|-----------|------|---------------------|
| INIAP-CAÑICAPA 2003 | 10 | 1,24 | A |
| RECLA 86/3/7085-B/ND4994.15//ND7556/4/AZAF CBSS99M00218T-A-1M-1Y-1M-0Y-0E | 89 | 1,16 | B |
| CERVECERA GUAMOTE | 44 | 1,10 | C |
| INIAP-Cañicapa 03 | 74 | 1,10 | C |
| LINEA ZUMBAHUA BLANCA (6H, DESNUDA) | 37 | 1,09 | C |
| CHENG DU 105/5/LIGNEE640/PI382798//DC- B/3/MOLA/4/LINO/6/ PETUNIA 1 CBSS99M00414T-B-4M-2Y-1M-0Y-0E | 106 | 1,08 | C |
| OPTIMA-BAR//BLLU//LA MOLINA 94 CBSW99WM00105T-1-1M-1Y-2M-0Y-0E | 51 | 1,02 | D |
| TRIUMP-BAR/TYRA//ARUPO*2/ABN- B/3/CANELA/4/CANELA/ZHEDAR#2 CBSS99Y00031S-1Y-1M-2Y-0M-0E | 75 | 1,01 | DE |
| LA MOLINA 94/PETUNIA 1 CBSS98WM00033S-0M-3Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 140 | 1,00 | DEF |
| CANELA/PCF9201//MSEL CBSS99Y00408T-0TOPM-1Y-2M-1Y-2M-0Y-0E | 86 | 1,00 | DEF |
| SCOTIA 1/WA1356.70//WA1245.68/BOYER/3/MJA/BRB2//QUINUA/ 4/LA MOLINA 94 CBSW99WM00116T-C-1M-2Y-1M-0Y-0E | 60 | 1,00 | DEFG |
| BR2/LP//AZAF CBSS97M00656T-B-2M-1Y-2M-1Y-1M-1Y-0M-0E | 70 | 0,99 | DEFG |
| INIAP-DORADA 71 | 1 | 0,99 | DEFGH |
| TOCTE/TOCTE//BERROS/3/PETUNIA 1/4/CANTUA CBSS99M00324T-AR-1M-2Y-1M-0Y-0E | 110 | 0,98 | DEFGHI |
| PENCO/CHEVRON-BAR//PETUNIA 1 CBSS99M00128S-3M-2Y-1M-0Y-0E | 114 | 0,97 | EFGHIJ |
| RITA PELADA | 15 | 0,96 | EFGHIJK |
| LEO-B/ALELI/4/SHYRI//GLORIA- BAR/COPAL/3/SHYRI/GRIT CMB94A.445-B-7M-2Y-2M-0Y-0E-0E-0E-0E | 156 | 0,95 | FGHIJK |
| PENCO/CHEVRON- BAR/3/ATACO/BERMEJO//HIGO/4/PETUNIA 1 CBSS99M00419T-C-1M-2Y-2M-0Y-0E | 103 | 0,95 | GHIJKL |
| GOB/ALELI//CANELA/3/SHYRI/ALELI CBSS99Y00043S-21Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 163 | 0,94 | GHIJKL |
| ARUPO/K8755//MORA/3/CERISE/SHYRI//ALELI/4/CANEL ACBSS96Y00426T-C-9Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E | 158 | 0,94 | HIJKLM |
| INIAP-DUCHICELA 78 | 2 | 0,94 | HIJKLM |

Los resultados de % de AF de las restantes líneas y/o variedades se detallan en el Anexo 10.

Los valores experimentales obtenidos varían entre 0,3 y 1,24 % de AF, lo que concuerda con los valores reportados por Ferguson (1988) y Kasim (1988) para cereales y leguminosas (0,1 – 6 %). Se sabe que concentraciones altas de AF influyen en la absorción de nutrientes debido a que forma complejos insolubles, siendo la insolubilidad la causa principal de su comportamiento antinutricional. Sin embargo el AF no solo tiene efectos negativos desde el punto de vista nutricional, como componente funcional puede ayudar a prevenir diversas patologías cardiacas, además puede actuar como anticancerígeno, desintoxicante, entre otras propiedades terapéuticas (17).

3.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE VARIOS PROCESOS SOBRE EL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO, EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA

De los genotipos evaluados en el análisis anterior, se seleccionaron cuatro líneas y/o variedades, con mayor contenido de AF y disponibles en el Programa de Cereales, las cuales fueron sometidas a procesos de escarificación, laminado, tostado, malteado y expandido, con el fin de determinar su efecto sobre el contenido de ácido fítico.

CUADRO 3. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO EN VARIOS GENOTIPOS DE CEBADA PROCESADOS

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|------|
| LÍNEA Y/O VARIEDAD | 0,25 | 3 | 0,085 | 38,277 | 0,000 | 2,87 |
| PROCESOS | 3,75 | 4 | 0,937 | 422,771 | 0,000 | 2,6 |
| LÍNEA Y/O VARIEDAD*PROCESOS | 0,41 | 12 | 0,034 | 15,293 | 0,000 | 2,0 |
| ERROR | 0,08 | 38 | 0,002 | | | |
| TOTAL | 4,51 | 59 | | | | |

El Cuadro 3, muestra que el contenido de ácido fítico varía por efecto del genotipo de grano, los procesos aplicados y la interacción de los dos factores, por lo que se aplicó la prueba de Tukey al 5 % para determinar los niveles de los factores que permiten obtener un menor contenido de ácido fítico.

El Cuadro 4, muestra que el proceso de expansión incide favorablemente en la disminución del ácido fítico, independientemente del genotipo de grano. Efecto que puede atribuirse al desprendimiento total de la cubierta del grano, donde se concentra el ácido fítico, por la eleva presión (120 psi) y temperatura alcanzadas en este proceso. En la variedad Cañicapa expandida se registró el menor contenido de ácido fítico (0,28 %), mientras que este mismo genotipo, sometido al proceso de laminado, experimentó una ligera disminución, de apenas el 7,24 %.

CUADRO 4. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA EL CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO EN LA INTERACCIÓN GENOTIPO-PROCESO(g/100g muestra).

| LÍNEAS Y/O VARIETADES vs PROCESO | % AF | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--|------|---------------------|
| Cañicapa Expandida | 0,28 | A |
| Dorada Expandida | 0,30 | A |
| Duchicela Expandida | 0,32 | A |
| Rita Pelada Expandida | 0,35 | A |
| Duchicela Escarificada | 0,52 | B |
| Cañicapa Escarificada | 0,69 | C |
| Duchicela Laminada | 0,81 | C D |
| Duchicela Tostada | 0,83 | C D E |
| Dorada Escarificada | 0,88 | D E F |
| Dorada Malteada | 0,90 | D E F |
| Rita Pelada Malteada | 0,90 | D E F |
| Dorada Tostada | 0,92 | D E F |
| Duchicela Malteada | 0,92 | D E F |
| Rita Pelada Escarificada | 0,95 | D E F |
| Dorada Laminada | 0,96 | E F |
| Cañicapa Malteada | 0,97 | E F |
| Rita Pelada Laminada | 0,98 | F G |
| Rita Pelada Tostada | 0,99 | F G |
| Cañicapa Tostada | 1,13 | G H |
| Cañicapa Laminada | 1,15 | H |

En el grano expandido, el contenido de ácido fítico varió de 0,28 a 0,35 %, mientras que en el grano nativo o en estado crudo el rango de variación fue de 0,94 a 1,24 %. Al respecto, PIESKER, (1994), señala que en la expansión, además del desprendimiento total de la cubierta, se produce una hidrólisis parcial de ácido fítico, obteniendo una disminución del 77,41 % en la variedad Cañicapa y 63,54 % en la variedad Rita Pelada. Sin embargo, Luna, (2005) no registró una disminución significativa del ácido fítico en quinua expandida, resultado en el que puede haber influido la presión de proceso y el genotipo de grano.

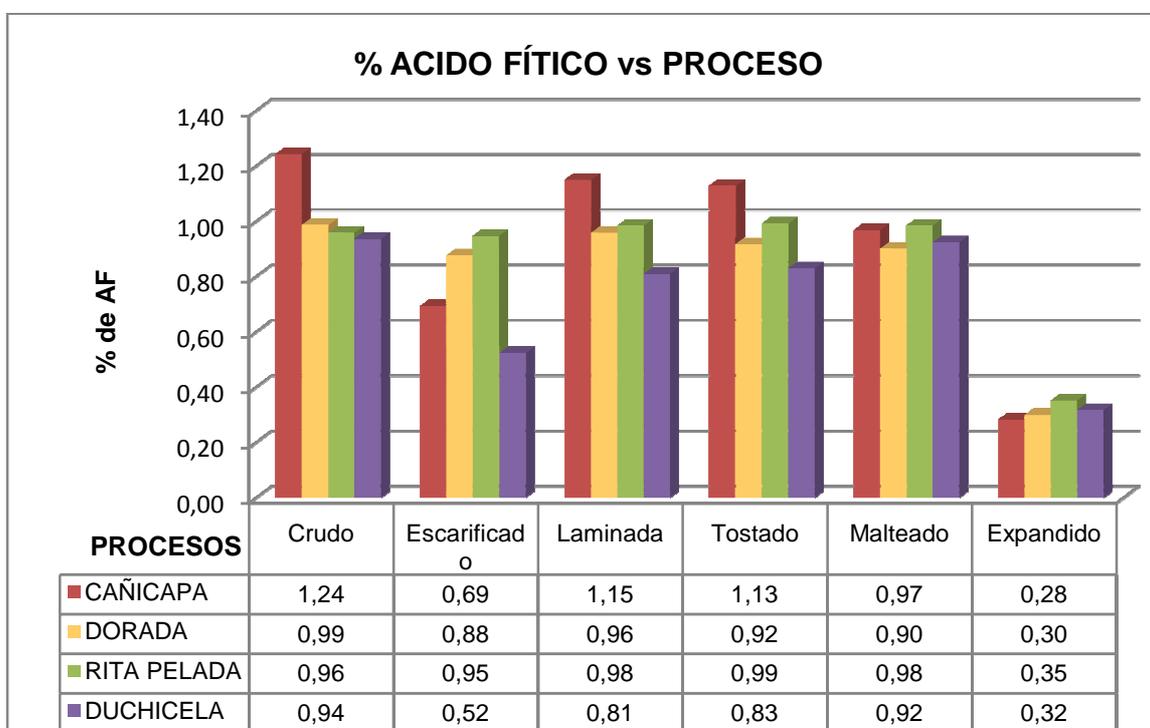


GRÁFICO 1. Efecto de la aplicación de varios procesos en el contenido de ácido fítico de varios genotipos de cebada.

En general el expandido y escarificado son los procesos que provocaron una mayor pérdida del ácido fítico, lo que no sucedió con el tostado y laminado, por lo que estos procesos aplicados a la variedad Cañicapa, se ubicaron en los últimos rangos estadísticos (GH, H). Concluyendo que los procesos de descorticación y alta temperatura favorecen la disminución de ácido fítico, no así aquellos en los que se conserva la cubierta y transcurren a temperatura ambiente.

3.3 DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD DE MINERALES EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

3.3.1 BIODISPONIBILIDAD DEL CALCIO

De los materiales contemplados en el primer ensayo se seleccionaron las líneas y/o variedades con mayor contenido de ácido fítico, las cuales fueron sometidas a 5 diferentes procesos, al final de los cuales se evaluó la disponibilidad de minerales, comparando este resultado con los minerales presentes en el grano nativo o crudo.

CUADRO 5. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE CALCIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|------|
| PROCESOS | 11199,850 | 5 | 2239,970 | 4809,006 | 0 | 2,45 |
| LINEA Y/O VARIEDAD | 2439,900 | 3 | 813,301 | 1746,082 | 0 | 2,84 |
| REPETICIONES | 0,950 | 2 | 0,476 | 1,022 | 0,382 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 1818,630 | 15 | 121,242 | 260,295 | 0 | 1,91 |
| ERROR | 21,43 | 46 | 0,466 | | | |
| TOTAL | 15480,760 | 71 | | | | |

El Cuadro 5, muestra que el contenido de calcio absorbible varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de grano, el proceso aplicado y la interacción entre estos dos factores.

La prueba de Tukey al 5% (Cuadro 6), muestra que los diferentes procesos aplicados al grano afectan a la biodisponibilidad del calcio, en mayor grado en los procesos de escarificado, laminado, tostado y expandido, en menor proporción en el grano malteado. En estado crudo, la variedad Duchicela presentó el mayor contenido de calcio biodisponible (62,28%^a), seguida por la variedad Cañicapa con 59,37 %^b y Rita Pelada

con 52,99%^c. El proceso más drástico fue el tostado, que contrasta con el proceso de malteo, que induce una menor pérdida de calcio biodisponible.

En los genotipos crudos, el calcio biodisponible varió entre 25,74 a 62 %, mientras que en los procesados el rango de variación fue de 8,70 a 35,19 %, verificándose un efecto negativo de los diferentes procesos aplicados. Por ejemplo la variedad Cañicapa en estado crudo presentó un 59% de calcio disponible, reduciéndose este valor a 24 % en el grano expandido, 18 % en el escarificado, 13 % en el laminado y 10 % en el tostado.

CUADRO 6. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA BIODISPONIBILIDAD DEL CALCIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA(g/100g muestra).

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % Ca BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|------------|---------------------|
| Duchicela Cruda | 62,28 | A |
| Cañicapa Cruda | 59,37 | B |
| Rita Pelada Cruda | 52,99 | C |
| Duchicela Malteada | 35,19 | D |
| Rita Pelada Malteada | 31,95 | E |
| Cañicapa Malteada | 31,88 | E |
| Duchicela Expandida | 29,80 | E |
| Duchicela Escarificada | 25,94 | F |
| Dorada Malteada | 25,86 | F |
| Dorada Cruda | 25,74 | F G |
| Duchicela Tostada | 25,52 | F G |
| Cañicapa Expandida | 23,60 | F G H |
| Duchicela Laminada | 23,38 | G H |
| Dorada Escarificada | 21,70 | H |
| Rita Pelada Expandida | 19,18 | I |
| Cañicapa Escarificada | 18,17 | I |
| Rita Pelada Escarificada | 14,12 | J |
| Rita Pelada Laminada | 13,77 | J |
| Cañicapa Laminada | 12,84 | J K |
| Dorada Expandida | 11,29 | K L |
| Dorada Laminada | 11,23 | K L |
| Cañicapa Tostada | 10,33 | L M |
| Rita Pelada Tostada | 9,91 | L M |
| Dorada Tostada | 8,70 | M |

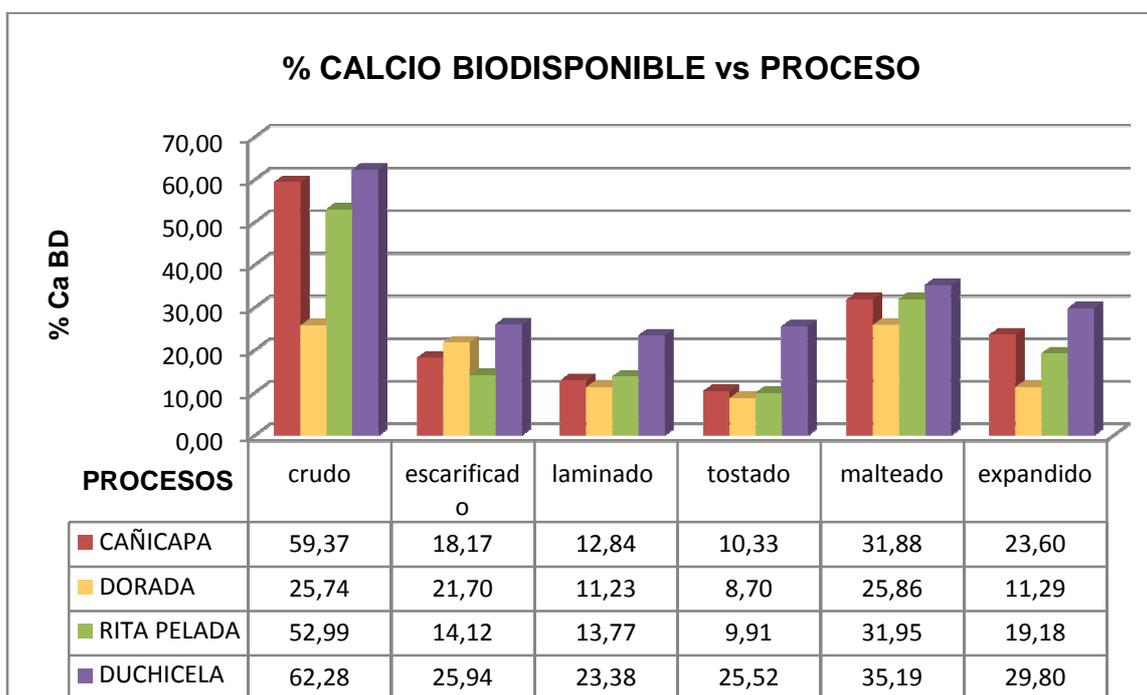


GRÁFICO 2.Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del calcio en genotipos de cebada.

La misma tendencia se observó con los demás genotipos de cebada considerados en este estudio. Resultados que pueden atribuirse al contenido de ácido fítico (AF) en el grano de cebada. Estudios realizados por Knox *et al.* (1991); Heany *et al.* (1991); Lonnerdal (1989); Miyazawa *et al.* (1991); Ranhotra (1981); Ponerose *et al.* (1989), indican que el AF reduce la absorción de Ca, y que la disminución del AF en la soja mediante mejora genética, contribuyó a incrementar la biodisponibilidad de este mineral. Sin embargo, los resultados obtenidos en ratas son contradictorios, ya que algunos estudios revelan el efecto inhibitor del AF en la absorción de Ca, mientras que otros minimizan su acción. Otros autores señalan que las ratas no pueden ser consideradas como un buen modelo para la absorción del Ca, debido a que la actividad fitasa de su mucosa intestinal, difiere de la del hombre y no juega un papel importante en la digestión del AF (27, 30, 34, 42, 51).

Adicionalmente, Lonnerdal *et al.* (1989) indica que el efecto inhibitor del fitato depende del grado de fosforilización del inositol, cuando éste es elevado (5 ó 6 fosfatos) la absorción de los iones Ca^{++} y Zn^{++} es inhibida significativamente, sin embargo a niveles de fosforilización menores, no se observa este efecto. Graf *et al.* (1993), Gifford-Steffen *et*

al. (1993) y Plaami(1997), concuerdan en que la solubilidad de los complejos formados depende también de la razón fitato-Ca; así la solubilidad del complejo fitato-Ca, es extremadamente baja. Cuando el Ca^{++} está presente en concentraciones elevadas se forman complejos con 5 ó 6 cationes por molécula de fitato ($[\text{Ca}]_5$ -fitato o $[\text{Ca}]_6$ -fitato), dependiendo de la concentración de Ca^{++} presente; los complejos hexa-, penta-, tetra-, y tricalcio son insolubles mientras que los complejos mono- y dicalcio son solubles. No obstante, la absorción del Ca^{++} de los complejos solubles fitato-Ca es muy pobre, ya que estos no sufren transporte pasivo en el intestino debido a la alta carga de estas moléculas, Los complejos insolubles fitato-calcio son también considerados responsables de la reducción de la biodisponibilidad de otros minerales como el Fe y Zn, a través de la unión de éstos al complejo fitato-Ca para formar un complejo aún menos soluble (20, 35, 47).

3.3.2 BIODISPONIBILIDAD DEL MAGNESIO

El Cuadro 7, muestra que el contenido de magnesio biodisponible varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de grano, el proceso aplicado y la interacción entre estos dos factores, por lo que se aplicó la prueba de Tukey al 5 % para identificar los genotipos y procesos con los que se obtuvo una mejor biodisponibilidad del magnesio.

CUADRO 7. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE MAGNESIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|------|
| PROCESOS | 2051,79 | 5 | 410,36 | 70,27 | 0,00 | 2,45 |
| LINEA Y/O VARIEDAD | 144,46 | 3 | 48,15 | 8,25 | 0,00 | 2,84 |
| REPETICIONES | 23,44 | 2 | 11,72 | 2,01 | 0,15 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 186,73 | 15 | 12,45 | 2,13 | 0,03 | 1,91 |
| ERROR | 268,63 | 46 | 5,84 | | | |
| TOTAL | 2675,06 | 71 | | | | |

CUADRO 8. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE MAGNESIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA(g/100g muestra).

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % Mg BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|------------|---------------------|
| Rita Pelada Malteada | 57,60 | A |
| Duchicela Malteada | 56,18 | A B |
| Cañicapa Malteada | 55,06 | A B C |
| Duchicela Escarificada | 54,43 | A B C D |
| Cañicapa Escarificada | 53,84 | A B C D |
| Dorada Malteada | 52,54 | A B C D E |
| Dorada Escarificada | 50,93 | A B C D E F |
| Duchicela Cruda | 50,67 | A B C D E F |
| Rita Pelada Expandida | 50,48 | A B C D E F |
| Cañicapa Cruda | 50,44 | A B C D E F |
| Rita pelada Escarificada | 50,34 | A B C D E F G |
| Duchicela Tostada | 48,88 | B C D E F G H |
| Rita Pelada Cruda | 48,22 | C D E F G H |
| Duchicela Expandida | 47,66 | C D E F G H |
| Dorada Cruda | 47,38 | D E F G H I |
| Rita Pelada Tostada | 46,00 | E F G H I |
| Cañicapa Expandida | 45,83 | E F G H I |
| Cañicapa Tostada | 44,57 | F G H I J |
| Dorada Tostada | 42,73 | G H I J |
| Dorada Expandida | 42,57 | H I J K |
| Duchicela Laminada | 41,45 | H I J K |
| Dorada Laminada | 39,84 | I J K |
| Rita Pelada Laminada | 38,07 | J K |
| Cañicapa Laminada | 35,00 | K |

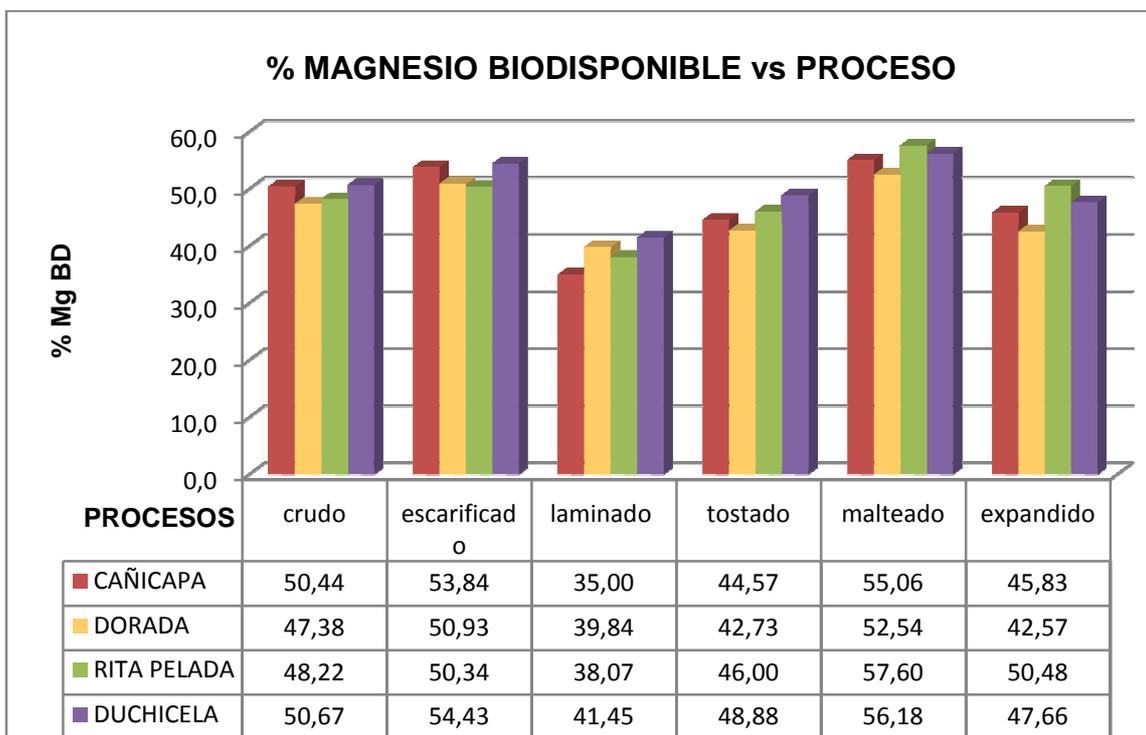


GRÁFICO 3. Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del magnesio en genotipos de cebada procesada y no procesada.

A diferencia del calcio, la biodisponibilidad del magnesio se incrementó con los procesos de malteo y escarificado.

El laminado del grano afectó negativamente a la biodisponibilidad del magnesio, con porcentajes de disminución entre 15,91 a 30,61 %, con respecto al grano crudo. Igual efecto produjo el tostado del grano y el expandido, a excepción de la variedad Rita Pelada que experimentó un incremento del magnesio biodisponible, por efecto del proceso.

La hidrólisis efectuada por la acción que las fitasas ejercen sobre las paredes celulares, durante la germinación, es posible que favorezca la biodisponibilidad del magnesio en el grano malteado. Igualmente el desprendimiento de la lema (cascarilla) por efecto de la abrasión o pulido del grano, deja expuesto al pericarpio y la testa, donde parece concentrarse el magnesio, mejorando su biodisponibilidad para el consumo.

La variedad Rita Pelada malteada, presenta un buen aporte de magnesio, con una biodisponibilidad del 57,60 %, mineral importante en las enfermedades del músculo cardíaco. Debiendo vigilar su ingesta, cuya proporción ha disminuido considerablemente en los últimos años, mientras que los contenidos de proteína, grasa, azúcar y calcio se ha elevado en la dieta (95).

3.3.3 BIODISPONIBILIDAD DEL POTASIO

CUADRO 9. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA BIODISPONIBILIDAD DEL POTASIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA.

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|------|
| PROCESOS | 463,47 | 5 | 92,694 | 33,034 | 3,79E-14 | 2,45 |
| LÍNEA Y/O VARIEDAD | 246,43 | 3 | 82,142 | 29,273 | 9,71E-11 | 2,84 |
| REPETICIONES | 0,94 | 2 | 0,472 | 0,168 | 0,846 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 572,52 | 15 | 38,168 | 13,602 | 3,48E-12 | 1,91 |
| ERROR | 129,08 | 46 | 2,806 | | | |
| TOTAL | 1412,44 | 71 | | | | |

El Cuadro 9, revela que el contenido de potasio disponible varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de grano, el proceso aplicado y la interacción entre estos dos factores, por lo que se aplicó la prueba del Tukey al 5 % para determinar los niveles de los factores que permiten obtener una buena biodisponibilidad de este mineral.

CUADRO 10. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE POTASIO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA(g/100g muestra).

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % K BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|-----------|---------------------|
| Dorada Cruda | 58,28 | A |
| Dorada Malteada | 57,86 | A B |
| Duchicela Cruda | 57,39 | A B C |

| | | |
|--------------------------|-------|---------------|
| Duchicela Malteada | 56,84 | A B C |
| Dorada Tostada | 56,74 | A B C D |
| Cañicapa Cruda | 56,60 | A B C D |
| Duchicela Expandida | 55,99 | A B C D E |
| Rita Pelada Cruda | 55,39 | A B C D E F |
| Rita Pelada Malteada | 55,28 | A B C D E F G |
| Duchicela Escarificada | 55,09 | A B C D E F G |
| Duchicela Tostada | 54,61 | A B C D E F G |
| Cañicapa Malteada | 53,55 | A B C D E F G |
| Cañicapa Expandida | 53,44 | A B C D E F G |
| Rita pelada Escarificada | 53,40 | A B C D E F G |
| Rita Pelada Expandida | 53,21 | B C D E F G |
| Dorada Expandida | 52,66 | B C D E F G H |
| Cañicapa Laminada | 52,49 | B C D E F G H |
| Rita Pelada Laminada | 52,05 | C D E F G H |
| Dorada Escarificada | 51,01 | D E F G H |
| Dorada Laminada | 50,12 | E F G H |
| Duchicela Laminada | 49,71 | F G H |
| Rita Pelada Tostada | 49,34 | G H |
| Cañicapa Tostada | 47,05 | H |
| Cañicapa Escarificada | 39,17 | I |

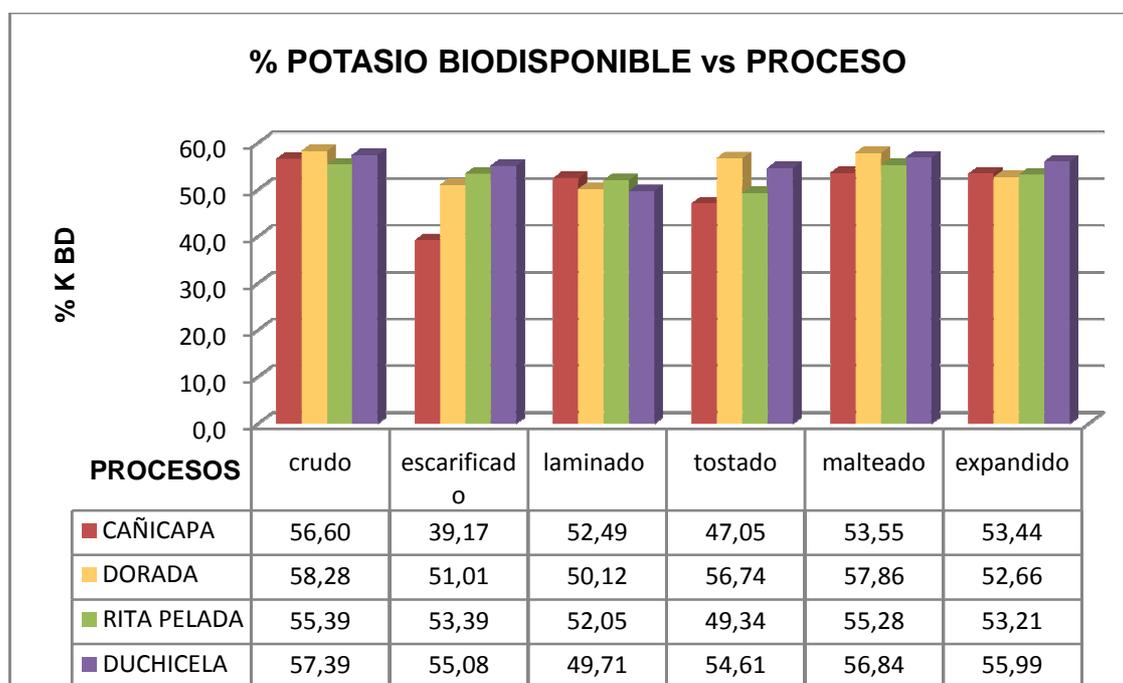


GRÁFICO 4. Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del potasio en genotipos de cebada procesada y no procesada.

El gráfico 4 muestra que los diferentes procesos aplicados al grano afectan a la biodisponibilidad del potasio, en mayor grado el escarificado y tostado; en menor grado el malteado y expandido. La variedad Dorada en estado crudo mostró el mayor contenido de potasio disponible (58,28 %), por efecto del malteo este valor disminuyó 0,7 %, por efecto del tostado 2,64 %, con la expansión el potasio biodisponible disminuyó un 9,64 %, la escarificación provocó una disminución del 12,47 % y el laminado un 14 %. Desde el punto de vista nutricional estas pérdidas carecen de importancia para la mayoría de las personas, pero pueden llegar a tener una gran relevancia en ciertos grupos de la población que requieren una alta ingesta de potasio, como las madres lactantes cuyo consumo adecuado asciende a 5100 mg/día.

3.3.4 BIODISPONIBILIDAD DEL FÓSFORO

CUADRO 11. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|------|
| PROCESOS | 6545,88 | 5 | 1309,176 | 294,451 | 0 | 2,45 |
| LINEA Y/O VARIEDAD | 269,65 | 3 | 89,883 | 20,216 | 1,68E-08 | 2,84 |
| REPETICIONES | 14,48 | 2 | 7,239 | 1,628 | 0,207 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 721,22 | 15 | 48,082 | 10,814 | 1,76E-10 | 1,91 |
| ERROR | 204,52 | 46 | 4,446 | | | |
| TOTAL | 7755,75 | 71 | | | | |

El análisis de varianza del Cuadro 11, muestra que el contenido de fósforo disponible varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de grano, los procesos aplicados y la interacción entre estos dos factores. Con un nivel de confianza del 95 % (Tukey 5 %), se concluye que la variedad Rita Pelada en estado crudo, presenta el mayor contenido de fósforo biodisponible (44,18 %), este valor no varió significativamente de Cañicapa en estado crudo (43,55 %). Adicionalmente la variedad Rita Pelada, en estado crudo, presentó un cociente Calcio/fósforo, igual a 1,19 próximo a

la condicional ideal (1). El proceso que mejor preservó el contenido de fósforo biodisponible es el malteo, en el cual se registró una pérdida del 4,79 %. Igualmente los diferentes genotipos sometidos al proceso de malteo, especialmente la variedad Duchicela, presentaron una relación Calcio/fósforo, muy próxima a la condición ideal de 1. En el grano expandido se registró una pérdida del 25,41 %, en el tostado 32,07 %, en el escarificado 35,80 % y el laminado 91,96 %.

CUADRO 12. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA(g/100g muestra).

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % P BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|-----------|---------------------|
| Rita Pelada Cruda | 44,18 | A |
| Cañicapa Cruda | 43,55 | A B |
| Duchicela Cruda | 43,35 | A B C |
| Rita Pelada Malteada | 42,06 | A B C D |
| Cañicapa Malteada | 40,56 | A B C D E |
| Cañicapa Escarificada | 40,07 | A B C D E F |
| Cañicapa Expandida | 39,21 | A B C D E F G |
| Dorada Cruda | 36,17 | B C D E F G H |
| Duchicela Expandida | 35,93 | C D E F G H |
| Duchicela Malteada | 35,73 | D E F G H I |
| Dorada Malteada | 34,45 | E F G H I J |
| Cañicapa Tostada | 34,29 | E F G H I J |
| Dorada Escarificada | 34,08 | E F G H I J |
| Rita Pelada Expandida | 32,95 | F G H I J |
| Duchicela Escarificada | 32,70 | G H I J |
| Dorada Expandida | 31,88 | G H I J |
| Dorada Tostada | 30,76 | H I J |
| Rita Pelada Tostada | 30,01 | H I J |
| Rita pelada Escarificada | 28,36 | I J |
| Duchicela Tostada | 27,23 | J |
| Duchicela Laminada | 16,74 | K |
| Dorada Laminada | 15,57 | K |
| Cañicapa Laminada | 12,24 | K |
| Rita Pelada Laminada | 3,55 | L |

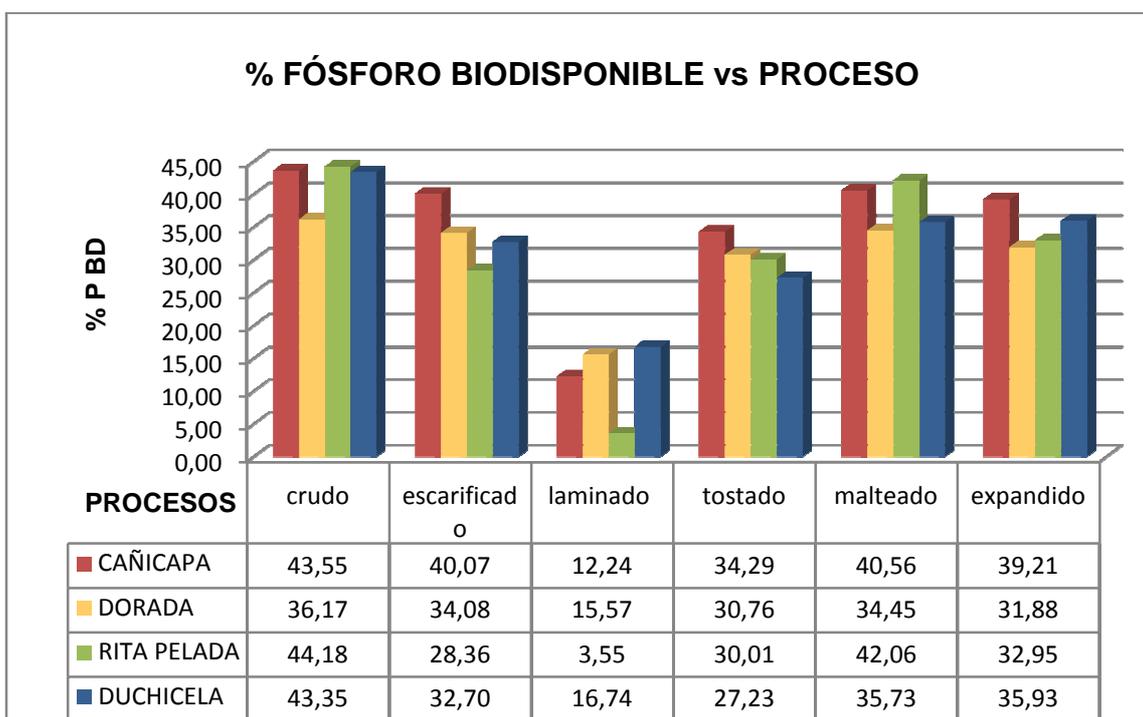


GRÁFICO 5. Efecto de varios procesos sobre la biodisponibilidad del fósforo en genotipos de cebada procesada y no procesada.

En general el fósforo es estable al malteo, no así a los otros procesos ensayados, especialmente al laminado, debido a la pérdida del mineral por la solubilización en el agua de cocción del grano, previo al proceso de laminado.

En general, Lonnerdal (1989), señala que los cereales y leguminosas contienen razonables niveles de elementos traza, sin embargo su grado de absorción es bajo, debido a la presencia de fibra como de fitatos. Adicionalmente, se conoce que la presencia de otras sustancias en los alimentos puede modificar la biodisponibilidad de los minerales; aún entre los distintos minerales se dan una serie de antagonismos y sinergias que son muy importantes. Un exceso de mineral puede empeorar la absorción de otro, posiblemente al competir por los lugares de ligamiento intestinal, de tal modo que la deficiencia de un mineral puede estar asociada con un aumento en la absorción de otro. Es conocido el antagonismo entre sodio-potasio, cobre-zinc, hierro-zinc, cadmio-zinc y manganeso-hierro. Esta competencia puede extenderse, no sólo a nivel de absorción, sino también a los lugares de actuación a nivel fisiológico y bioquímico. Así mismo, se ha descrito que el zinc inhibe la absorción intestinal de calcio, sin embargo, la

ingestasimultánea de altos niveles de calcio y fósforo no afecta ni a la excreción ni al balance de zinc (Aspe, 1992). Grosch (1994) indica que una serie de componentes de los alimentos, tales como proteínas, péptidos, aminoácidos, polisacáridos, azúcares, lignina, fitina y ácidos orgánicos se unen a los minerales y facilitan o dificultan su absorción, (3, 24, 35, 46).

Según los resultados obtenidos, la cantidad de mineral presente en el alimento es un importante condicionante de su biodisponibilidad. La cantidad absorbida y utilizada depende de la ingesta, pero no sólo porque éste es un determinante principal en los procesos de difusión y absorción, sino también porque la cantidad ingerida puede jugar un papel importante en las interacciones que se producen.

Otra pieza clave de la biodisponibilidad de un mineral en una dieta o un alimento concreto, es su forma físico-química, lo que se ha dado en llamar “speciation” (VanDokkum, 1989) o especie química o bioquímica, y hace referencia al estado de valencia, los complejos ligandos del metal y los compuestos del mineral. En síntesis el potencial redox y el pH condicionan los intervalos de valencia y la solubilidad y como consecuencia la absorción.

Aspe (1992) considera que la estructura atómica de un elemento determina sus propiedades químicas y que estas son responsables de sus funciones fisiológicas, se puede inferir que la forma química del elemento en el alimento es determinante y que en el intestino delgado, es la llave de la absorción. Por lo que las manipulaciones industriales (procesos) y culinarias pueden condicionar cambios o interacciones que pueden producirse en el alimento y por ende en la dieta(3).

Según Varela (1985), los alimentos se procesan en parte para conservarse, cuando la captura o cosecha es estacional, y por otra, en función de los hábitos alimentarios que obligan a darles unas características organolépticas determinadas (61).

La mayor parte de los tratamientos utilizados tanto en la preparación culinaria de alimentos como las realizadas a escala industrial implican actuación del calor, es decir,

son procesos térmicos que producen cambios tanto físico como químicos, alterando los nutrientes alimentarios, (Aspe, 1992) (3).

3.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA Y LISINA DISPONIBLE, EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA, PROCESADA Y NO PROCESADA

3.4.1 BIODISPONIBILIDAD DE PROTEÍNA

CUADRO 13. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA BIODISPONIBILIDAD DE LA PROTEÍNA EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|------|
| PROCESOS | 7,59 | 5 | 1,52 | 1048,36 | 0 | 2,45 |
| LINEA Y/O VARIEDAD | 94,13 | 3 | 31,38 | 21661,18 | 0 | 2,84 |
| REPETICIONES | 0 | 2 | 0,00 | 0,85 | 0,44 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 8,19 | 15 | 0,55 | 377,16 | 0 | 1,91 |
| ERROR | 0,07 | 46 | 0,00 | | | |
| TOTAL | 109,98 | 71 | | | | |

El Cuadro 13, muestra que el contenido de proteína disponible varía significativamente ($P \leq 0.05$) por efecto del genotipo de grano, el proceso aplicado y la interacción entre estos dos factores. Con un nivel de confianza del 95 % (Tukey 5 %), se concluye que la variedad Duchicela malteada, presenta el mayor contenido de proteína disponible con 9,41 %, seguida por Rita Pelada Cruda con 9,38 %. El contenido de proteína disponible en la variedad Cañicapa se incrementó con el laminado, tostado, malteo y expandido del grano no así con el escarificado, debido a la pérdida parcial de la aleurona en la que se inicia la síntesis primaria de la mayor parte de las enzimas. Esta misma tendencia no se observó con la variedad Dorada, la cual experimentó un incremento de la proteína disponible con los procesos de tostado y malteo, no así con el escarificado, laminado y expandido. En la variedad Rita Pelada, la proteína disponible disminuyó por efecto de los

procesos ensayados, mientras que en la variedad Duchicela subió el contenido por efecto del laminado, malteo y expandido del grano, el escarificado y tostado influyeron negativamente provocando una disminución del contenido de proteína disponible.

CUADRO 14. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA PROTEÍNA DISPONIBLE EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA(g/100g muestra).

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % Proteína BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------|
| Duchicela Malteada | 9,41 | A |
| Rita Pelada Cruda | 9,38 | A B |
| Rita Pelada Malteada | 9,27 | B |
| Rita Pelada Tostada | 9,11 | C |
| Cañicapa Tostada | 9,10 | C D |
| Cañicapa Malteada | 9,10 | C D |
| Cañicapa Laminada | 9,08 | C D |
| Cañicapa Expandida | 8,99 | D |
| Cañicapa Cruda | 8,42 | E |
| Cañicapa Escarificada | 8,36 | E F |
| Rita Pelada Laminada | 8,30 | E F |
| Rita Pelada Expandida | 8,29 | F |
| Duchicela Laminada | 8,14 | G |
| Rita Pelada Escarificada | 7,97 | H |
| Duchicela Expandida | 7,81 | I |
| Duchicela Cruda | 7,70 | I |
| Duchicela Tostada | 7,55 | J |
| Duchicela Escarificada | 7,45 | J |
| Dorada Malteada | 6,27 | K |
| Dorada Tostada | 6,13 | L |
| Dorada Cruda | 6,04 | L M |
| Dorada Escarificada | 5,96 | M |
| Dorada Expandida | 5,79 | N |
| Dorada Laminada | 5,73 | N |

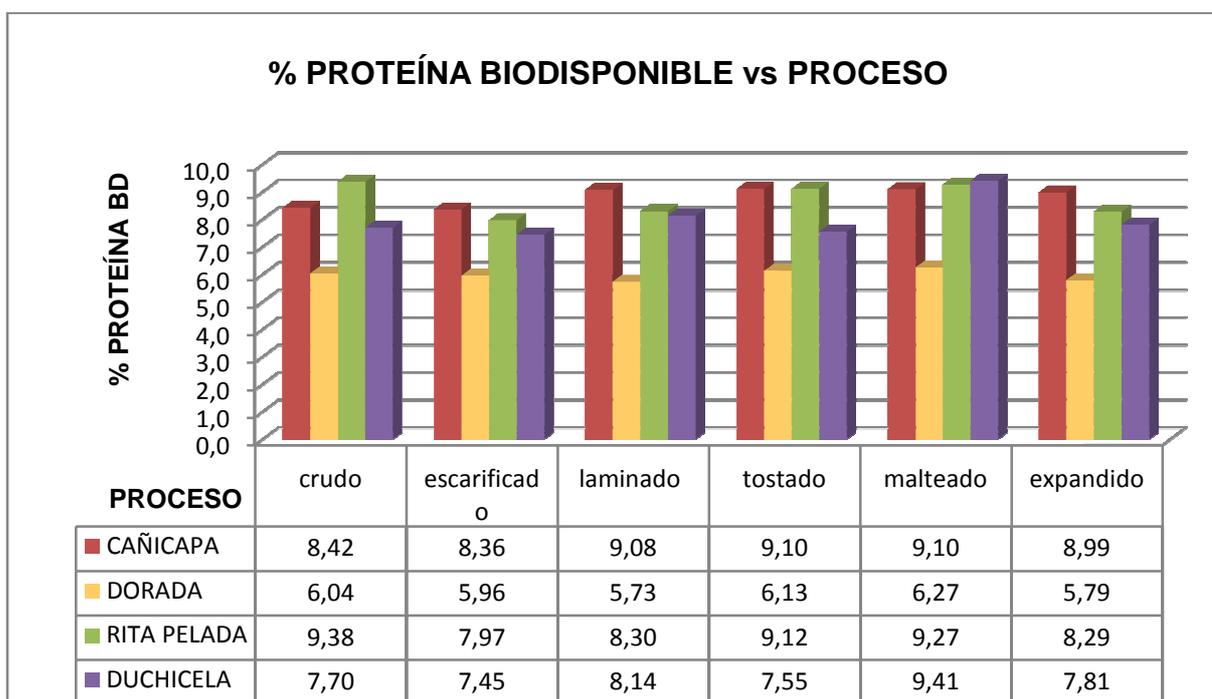


GRÁFICO 6. Efecto del procesamiento sobre el contenido de proteína disponible en varios genotipos de cebada.

En general con el proceso de malteo se elevó el contenido de proteína disponible, con respecto al grano crudo, en la mayoría de genotipos ensayados, mientras que los demás procesos en algunos materiales aumentaron el contenido de proteína disponible, pero en otros indujeron una pérdida de este componente. Los procesos térmicos como el laminado, tostado y expandido, no produjeron un incremento en la biodisponibilidad de la proteína, de todos los genotipos estudiados, quizás debido al concurso de otros factores, como la solubilidad de algunas proteínas en el proceso de cocción acuosa previo al laminado, reacciones inter e intramoleculares, hidrólisis o destrucciones por oxidación de péptidos y aminoácidos y formación de complejos proteína-carbohidrato o proteína-lípido, (Bender, 1984). Al respecto Kokini, (1992), indican que las temperaturas próximas a los 100°C inducen a la desnaturalización de la proteína, propiciando la reacción de Maillard con azúcares reductores como la glucosa, galactosa, fructosa y principalmente xilosa. La desnaturalización de las proteínas, implica un cambio importante en la estructura nativa: cuaternaria, terciaria y secundaria, pero que no altera la secuencia de aminoácidos (estructura primaria), ya que si esto ocurriera debería hablarse de deterioro. Gómez (1989) indica que los cambios producidos por el procesamiento, en la estructura de las proteínas ocasiona una pérdida de las propiedades

biológicas y un cambio en las propiedades físico-químicas, favorables desde el punto de vista nutricional ya que se eliminan o reducen varios factores antinutritivos de naturaleza proteica(6, 22).

3.4.2 BIODISPONIBILIDAD DE LISINA

CUADRO 15. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LISINA DISPONIBLE EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA

| Fuente de Variación FV | Suma de Cuadrados SC | Grados de Libertad gl | Cuadrados Medios CM | Razón de Varianza F | p-valor | FT |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|------|
| PROCESOS | 0,14 | 5 | 0,028 | 145,56 | 0 | 2,45 |
| LINEA Y/O VARIEDAD | 0,02 | 3 | 0,006 | 31,97 | 2,55E-11 | 2,84 |
| REPETICIONES | 0 | 2 | 0,000 | 0,99 | 0,378 | |
| PROCESOS*LÍNEA Y/O VARIEDAD | 0,05 | 15 | 0,003 | 16,03 | 1,81E-13 | 1,91 |
| ERROR | 0,01 | 46 | 0,000 | | | |
| TOTAL | 21,02 | 71 | | | | |

El Cuadro 15, muestra que el genotipo de grano así como los procesos aplicados, influyen en la proporción de lisina disponible, por lo que se aplicó la prueba de Tukey al 5 %, para determinar los niveles de los factores que permiten obtener la mayor cantidad de lisina disponible. Estableciéndose que la variedad Cañicapa con el proceso de tostado, presentó el mayor contenido de lisina disponible 2,94 %, valores similares presentaron las variedades Rita pelada y Dorada malteadas, así como Cañicapa escarificada, por lo que compartieron el rango estadísticos (A) con Cañicapa tostada.

CUADRO 16. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA LA LISINA DISPONIBLE EN LÍNEAS AVANZADAS Y/O VARIEDADES DE CEBADA PROCESADA Y NO PROCESADA (g/100g de muestra)

| PROCESOS VS LÍNEA Y/O VARIEDAD | % Lisina BD | RANGOS ESTADÍSTICOS |
|--------------------------------------|----------------|---------------------|
| Cañicapa Tostada | 2,94 | A |
| Rita Pelada Malteada | 2,92 | A B |
| Dorada Malteada | 2,91 | A B |
| Cañicapa Escarificada | 2,91 | A B |
| Duchicela Escarificada | 2,89 | B C |
| Rita Pelada Tostada | 2,89 | B C |
| Rita Pelada Laminada | 2,88 | B C D |
| Dorada Escarificada | 2,88 | B C D |
| Cañicapa Malteada | 2,86 | C D E |
| Dorada Laminada | 2,86 | C D E |
| Duchicela Malteada | 2,86 | C D E |
| Cañicapa Laminada | 2,85 | C D E |
| Rita Pelada Escarificada | 2,85 | C D E |
| Duchicela Tostada | 2,85 | C D E |
| Dorada Cruda | 2,84 | D E F |
| Cañicapa Cruda | 2,82 | E F G |
| Rita Pelada Cruda | 2,82 | E F G |
| Dorada Tostada | 2,82 | E F G |
| Duchicela Cruda | 2,80 | F G H |
| Cañicapa Expandida | 2,80 | F G H I |
| Duchicela Laminada | 2,79 | G H I |
| Rita Pelada Expandida | 2,77 | H I |
| Duchicela Expandida | 2,75 | I J |
| Dorada Expandida | 2,73 | J |

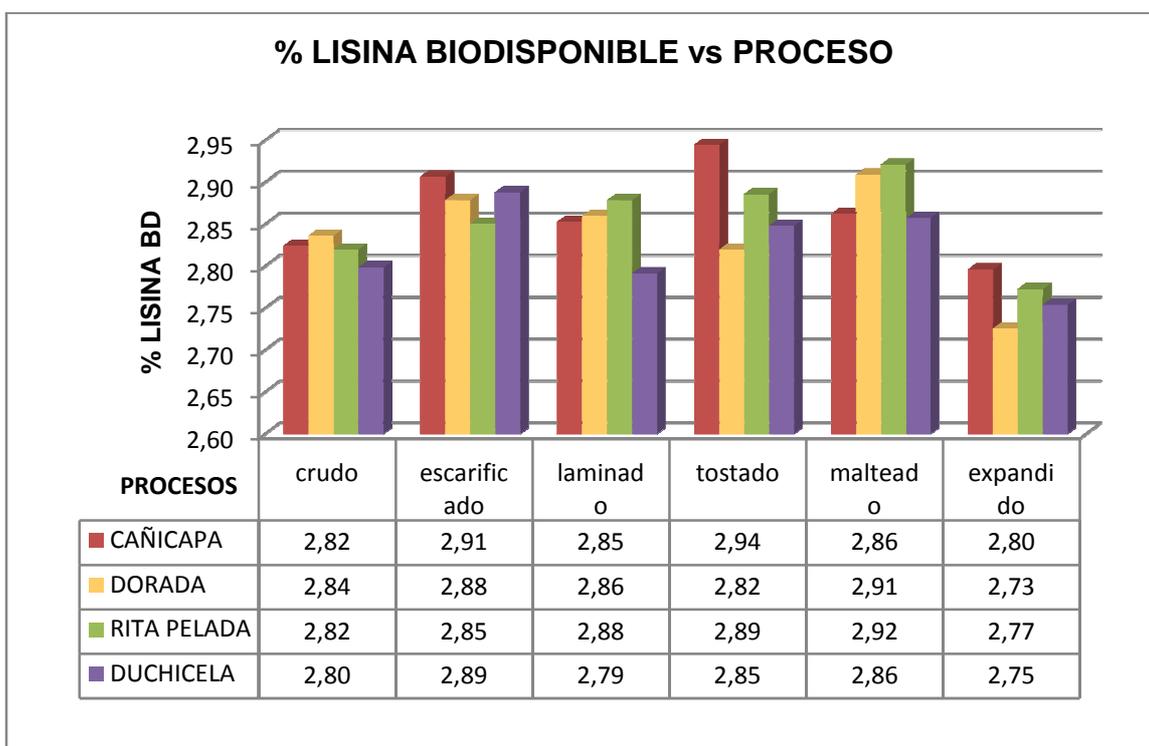


GRÁFICO 7. Porcentaje de lisina biodisponible en función del proceso aplicado.

De los procesos ensayados, el malteado es el que más benefició el contenido de lisina disponible, debido a la acción de las enzimas que se sintetizan durante el proceso de germinación, las que hidrolizan las proteínas y almidones, mejorando su biodisponibilidad.

Martínez (2002) indica que varios estudios, tanto *in vivo* como *in vitro*, sobre el efecto del fitato en la digestibilidad de las proteínas queladas y la absorción de aminoácidos, señalan que el efecto adverso del fitato es muy pequeño o nulo. La interacción entre el AF y las proteínas, encontrando resultados discordantes en los experimentos *in vivo* en la relación entre fitato y digestibilidad proteica. Otros investigadores han atribuido el efecto negativo de los fitatos en el metabolismo proteico, a la capacidad de inhibir enzimas digestivas más que a la formación de un complejo fitato-proteína (38).

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES

1. En los genotipos analizados el contenido de AF varió entre 0,3 a 1,24 %, determinándose que la variedad Cañicapa 2003 presentó el mayor contenido (1.24%), mientras que la variedad Rita Pelada mostró el menor contenido con 0,36 %.
2. Con la expansión se logró una mayor reducción del ácido fítico entre el 63 al 77 %, con relación al grano crudo. Los procesos de malteado, tostado, laminado y escarificado produjeron un efecto similar aunque en menor grado.
3. La biodisponibilidad de los minerales como el calcio, fósforo, magnesio, potasio y sodio, varió dependiendo del genotipo y el proceso aplicado al grano, concluyéndose que el ácido fítico no es el único factor que afecta la biodisponibilidad de estos elementos.
4. Los genotipos con mejor disponibilidad de minerales fueron: Duchicela Cruda con un 62,28% de calcio biodisponible, Rita Pelada malteada con 57,60% de magnesio, Dorada Cruda con 58,28% de potasio y Rita Pelada Cruda con 44,18% de fósforo biodisponible.
5. No se reportó la biodisponibilidad de microelementos como el Fe^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} y Mn^{++} , cuya detección no fue posible, debido a que pueden no presentan biodisponibilidad o la disponibilidad es muy baja que no es fácilmente detectada por los instrumentos usados.

6. El contenido de ácido fítico afecta a la biodisponibilidad de minerales, disminuyendo el valor nutritivo de la cebada; sin embargo podría tener un efecto positivo desde el punto de vista farmacoterapéutico, por lo que este grano podría ser utilizado como un alimento funcional.
7. Los diferentes procesos aplicados al grano, incidieron sobre la disponibilidad de proteína y lisina, determinándose el mejor contenido (9,41 %) en la variedad Duchicela, sometida al proceso de malteo.
8. Al igual que en la proteína, la mayoría de procesos ensayados favorecieron la biodisponibilidad de lisina, especialmente en la variedad Cañicapa, sometida al proceso de tostado, con el que se alcanzó un valor de 29,44 %.

CAPITULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Estudiar el efecto de la adición de fitasas, con el fin de evaluar su incidencia en la disminución de ácido fítico y la mejora en la biodisponibilidad de nutrientes.
2. Evaluar la aplicación de otros procesos que puedan ayudar a incrementar la biodisponibilidad de nutrientes, así como la biofortificación de alimentos.
3. Estudiar las propiedades farmacológicas del ácido fítico, en base al efecto positivo para el tratamiento de diversas patologías, reportado por varios autores. Para lo cual puede usarse como materia prima la variedad Cañicapa en estado crudo.
4. Las soluciones enzimáticas deben ser preparadas a diario y conservadas en refrigeración debido a que pierden fácilmente su actividad.
5. Las soluciones buffer PIPES y HEPES, así como las membranas de diálisis deben conservarse en refrigeración a temperatura de 4 a 8 °C.
6. Se debe tener muy en cuenta el control en el lavado y limpieza del material a utilizar, en especial para los análisis de minerales realizados por absorción atómica, de manera que se eviten interferencias que conlleven a resultados falsos.

CAPITULO VI

6. RESUMEN Y SUMMARY

6.1 RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la variabilidad del contenido de ácido fítico y su relación con la biodisponibilidad de minerales y proteínas en líneas y/o variedades avanzadas de cebada procesada y no procesada realizado en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias y en el Laboratorio de Calidad Nutricional del Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Se aplicó el método científico y técnicas instrumentales mediante la utilización de espectrofotómetros de absorción molecular y de absorción atómica; se analizaron 174 genotipos determinándose una variabilidad de 0,3 a 1,24%. La variedad Cañicapa 2003 con 1,24% es el material con mayor contenido de dicho ácido y la variedad Pelada 2 (hexástica) con el menor contenido de 0,36%. Se seleccionaron cuatro genotipos con alto contenido y fueron sometidos a diferentes procesos (expandido, malteado, tostado, laminado y escarificado) evaluándose su efecto sobre el ácido fítico, siendo el expandido como efectivo para disminuirlo de 63 a 77%; en los otros procesos disminuye en menor proporción. Al relacionarlo con la biodisponibilidad de minerales y proteína, se evaluó el efecto de los procesos, sobre estos parámetros, seleccionando los genotipos de mayor contenido de proteína y minerales biodisponibles, presentando la Duchicela Cruda un 62,28% de calcio, Rita Pelada Malteada 57,60% de magnesio, Dorada Cruda 58,28% de potasio y Rita Pelada Cruda 44,18% de fósforo. Manifestándose los genotipos no procesados, con mejor biodisponibilidad mineral en relación a los procesados. No fue posible cuantificar y evaluar los microelementos (Fe, Zn, Cu y Mn) por su baja o nula

disponibilidad en el grano. Al evaluar la proteína disponible, la DuchicelaMalteada presentó mayor contenido con 9,41%. En general, este parámetro varió ligeramente por efecto de los procesos aplicados. Además la Cañicapa Tostada presentó el mayor contenido de lisina disponible (2,94 %).

Se concluye que este ácido no es el único factor que influye en la biodisponibilidad de minerales, proteína y lisina, por lo que se recomienda se evalué el efecto de otros antinutrientes, tipo de procesos aplicados y condiciones de cultivo.

6.2 SUMMARY

The proposal of this study was to evaluate the phytic acid content and its relation with the bioavailability of minerals and proteins on lines and/or advanced varieties of processed and non-processed barley carried out at the Experimental Station Santa Catalina of the Institute National of Agroinvestigations and at the Laboratory of Nutritional Quality at the International Center of Tropical Agriculture.

The scientific method and instrumental techniques were applied by means of the molecular absorption and atomic absorption spectrophotometers: 174 genotypes were analyzed determining a variability of 0,3 to 1,24%. The variety Cañicapa 2003 with 1,24% is the material with better content of the acid and the variety Pelada 2 (hexastics) with the less content of 0,36%. Four genotypes with higher content were selected submitted to different processes (expanded, malted, toasted, laminated and scarified) evaluating its effect on the acid, being the expanded the best one to decrease it from 63 to 77%; with the other process it decreases in less proportion. When it is related to the bioavailability of minerals and protein, of the process the effect was evaluated, selecting those genotypes of most content of protein and bioavailability minerals, showing that of DuchicelaCruda a 62,28% of calcium, Rita PeladaMalteada 57,60% of magnesium, DoradaCruda 58,28% of potassium and Rita PeladaCruda 44,18% of phosphorus. The non-processed genotypes were manifested with better mineral bioavailability related to those processed. It was not possible to count and evaluate the microelements (Fe, Zn and Mn) due to the low or null availability on the grain. When the protein was evaluated the DuchicelaMalteada presented major content with 9,41%. In general, this parameter varied lightly by effect of the applied processes. Beside the Cañicapa Tostada showed the most content of available lysine (2,49%).

As a conclusion, this acid is not the only one factor which influences on the bioavailability of minerals, protein and lysine, therefore, it is recommended the effect of other anti-nutrients, type of applied processes and conditions of culture should be evaluated.

CAPITULO VII

7. BIBLIOGRAFIA

1. **ARAGÓN, I.** 2009. Validación de un Método de Digestión de Hierro in Vitro para la Evaluación de la Biodisponibilidad de Hierro en los Alimentos. Proyecto de Trabajo de Grado. Título de Química. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad del Valle. Santiago de Cali. 98 p.
2. **ARIAS, G.** 1996. La Calidad Industrial de la Cebada Cervecera. Primera Reunión Latinoamericana de Cebada Cervecera. - Cochabamba, Bolivia : FAO/SNAG/IBTA. pp 141-183.
3. **ASPE T.** 1992. Influencia del Tratamiento Térmico de la Proteína Dietética sobre la Biodisponibilidad de Minerales. Instituto de Nutrición y Bromatología (C.S.I.C.-U.C.M). Tesis de Doctorado en Química y Farmacia. Madrid - España. 295 p.
4. **BADUI, S.** 2006. Química de los Alimentos. 4ta ed. México. Pearson Educación. pp. 565-598.
5. **BARBERÁ, R. y FARRÉ, R.** 1992. Biodisponibilidad de los Elementos Traza. Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. (32) : 381-399.
6. **BENDER, AB.** 1984. Protein Quality. Determination and Usefulness. Proc. M.O.C.C.A. Valencia – España. pp. 38-90.

7. **BHATTY, RS. y SLINKARD, AE.** 1989. Relationship between Phytic Acid and Cooking Quality in Lentil. *Can Inst Food Sci Technol. Journal.* (22) : 137-42.
8. **CALLEJO M.** 2002. Industrias de cereales y derivados. Iragra. Madrid. pp. 34, 179, 181, 183, 185, 321 – 323.
9. **CÁMARA, F.** 2004. Biodisponibilidad Mineral de Menús Escolares. Tesis Doctoral. Departamento de Bromatología y Tecnología de Alimentos. Universidad de Córdoba. Murcia. 302 p.
10. **CONCON, J.** 1998. Food Toxicology. Part A: Principles and Concepts. USA. Marcel Dekker, Inc. pp. 411-416.
11. **COOL, C. y CEH MAY, F. y UC CASTILLO, M.** 2006. Espectrofotómetro de absorción atómica. Informe. p. 19.
12. **CRIOLLO, P. y CUJILEMA, L.** 2009. Plan de Negocios para la Creación de una Empresa de Producción de Colada de Machica en la Provincia de Chimborazo, Cantón Colta. Proyecto de titulación previo la obtención del título de Ingeniero Empresarial. Escuela Politécnica Nacional. Quito - Ecuador. 314 p.
13. **CRUZ, F.** 2009. Resultados de los Análisis de Laboratorio de Variedades de Cebadas Tropicalizadas para Ecuador. Cervecería Nacional. Pp. 22 – 25.
14. **DÁVILA, J. y RUALES, J. POLIT, P. y ACUÑA, O.** 1992. Memorias del Seminario Taller sobre Extrusión de Alimentos. Escuela Politécnica Nacional. Instituto de Investigación Tecnológica Área de Alimentos. Quito – Ecuador. pp. 23 – 47.
15. **FALCONÍ E.** 2009. Informe de actividades del Convenio INIAP-CORPOINIAP-CERVECERÍA NACIONAL. Quito – Ecuador.

- 16. FIGUEROA, J.** 1985. Métodos para Evaluar la Calidad Maltera en Cebada. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México, D.F. BARH. pp. 33-46.
- 17. FERGUNSON, E. GIBSON, R. THOMPSON, L. OUNPUU, S y BERRY, M.** 1988. Phytase, Zinc, and Colon Content of 30 East African Foods and their Calculated Phytate: Zn, Ca: Phytate and [Ca] [Phytate]/[Zn] Molar Ratios. J Food Comp Annual. pp. 16-25.
- 18. FOSTER, E. y PRENTICE, N.** 1987. Barley. En: Nutricional Quality of Cereal Grains. Genetic and Agronomic Improvement. Madison. WI: ASA-CSSA-SSAS. Monografía Agronómica N° 28.
- 19. FRONTELA, C.** 2007. Efecto de la Adición de Fitasa sobre la Biodisponibilidad Mineral in Vitro en Papillas Infantiles. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria. Murcia – España. 314 p.
- 20. GIFFORD-STEFFEN, S. y CLYDESDALE, F.** 1993. Effect of Varying Concentrations of Phytate, Calcium, and Zinc on the Solubility of Protein, Calcium, Zinc, and Phytate in Soy Protein Concentrate. J Food Protect. (56) : 42-46.
- 21. GODOY, S. y CHICCO, C.** 2005. Metodologías de Investigación para Estimar la Biodisponibilidad de los Minerales en Rumiantes. Primer Curso Internacional Sobre Avances en la Nutrición de los Rumiantes. Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Aragua – Venezuela. 21 p.
- 22. GÓMEZ, J.M. y TORRE BORONAT, M.C.** 1989. Influencia de la Tecnología en el Valor Nutritivo de los Alimentos. I Proteínas. Alimentaria (204) : 15-21.
- 23. GRAF, E. y EATON, JW.** 1993. Suppression of Colonic Cáncer by Dietary Phytic Acid. Nutr Cáncer. (19) : 11 - 19.

24. **GROSCH, W. Y HANS-DIETER, B.** Química de los Alimentos. 4ta ed. Berlin – Alemania. Springer-Verlag GmbH Co. pp. 449-457.
25. **GUTIERREZ, D. y ROSERO, M.** 2009. Manual de Métodos. Laboratorio de Calidad Nutricional. CIAT. Santiago de Cali. 53 p.
26. **HARRIS D.**1992. Análisis Químico Cuantitativo. Iberoamericana.México. pp. 509-510.
27. **HEANY, RP.** 2006. Absorbability and utility of calcium in mineral waters. American Journal of Clinical Nutrition. (84): 371-374.
28. **JONGBLOED, A.W. y KEME, P.A.** 1994. Disponibilidad de Fósforo en Ingredientes Alimenticios para Ganado Porcino. Memorias del Curso de Especialización: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Madrid. 10 p.
29. **KAUR, D. y KAPOOR, AC.** 1990. Algunos de los Factores Antinutricionales en Frijol Arroz (*Vigna umbellata*): Efectos de los Métodos Domésticos de Preparación y de Cocción. Food Chem. (37): 171-179.
30. **KNOX, T. KASSARJIAN, Z. y DAWSON-HUGHES, B.** 1991. Calcium Absorption in Elderly Subjects on High and Low Fiber Diets: Effects of Gastric Acidity. Am J Clin Nutr. (53) : 1480-1486.
31. **KOKINI, J.** 1992. Food Extrusion Science and Technology. Marcel Dekker Inc New York. p. 198.
32. **INEC-MAG-SICA.** 2002. III Censo Nacional Agropecuario. República del Ecuador. Resultados Nacionales y Provinciales. Quito : INEC-MAG-SICA.

33. **LEHRFELD, J. y MORRIS, ER.** 1992. Overestimation of Phytic Acid in Foods by the AOAC Anion-Exchange Method. *J Agric Food Chem.* (40) : 208-210.
34. **LØNNERDAL, B.** 1990. Inhibitory Effects of Phytic Acid and others Inositol Phosphates on Zinc and Calcium Absorption in Suckling Rats. *J Nutr.* (2) : 11- 14.
35. **LØNNERDAL, B.** 1989. "Food and dietary factors influencing levels and bioavailability of trace elements". "Nutrient availability: Chemical and Biological Aspects". Cambridge : Royal Society of Chemistry. 3ra ed. Thomas Graham House. pp. 131-139.
36. **LUNA, G.** 2005. Efecto del Proceso de Cocción Extrusión en la Fracción Indigestible, Capacidad Antioxidante, Polifenoles Totales, Fitatos y Algunas Propiedades Funcionales en 3 variedades de Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) [Informe] : Tesis para optar el Título de Magister Scientae. Universidad Agraria La Molina. Lima – Perú.
37. **MARRINSEN, A. TORRES, C. y LAURIC, A.** 2009. Fertilización Nitrogenada de Cebada Cervecera en un Año Seco. Bordenave : INTA – EEA. pp 28-30.
38. **MARTÍNEZ, B. GÓMEZ, M. y RINCÓN, F.** 2002. Ácido Fítico: Aspectos Nutricionales e Implicaciones Analíticas. Universidad de Córdoba. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Córdoba – España. (52) : 3.
39. **MARTÍNEZ, C.** 1996. *Food Science and Technology International.* (2) : 201-209.
40. **MATEOS, G.G. y REBOLLAR, P.G.** 2002. El fósforo en la Nutrición Animal. Necesidades, Valoración de Materias Primas y Mejora de la Disponibilidad. Memorias del Curso de especialización: Avances en nutrición y alimentación animal. Madrid. 31 p.

- 41. MILLER, D. SCHIRICKER B. RASMESSEN B. y VAN CAMPEN D.** 1981. An in Vitro Method for Estimation of Iron Availability from Meals. American Journal of Clinical Nutrition (34) : 2248-2256.
- 42. MIYAZNWA, E. y YOSHIDA, T.** 1991. Effects of Dietary Levels of Phytate and Inorganic Phosphates on Phytate Breakdown and Absorption of Calcium and Magnesium in Rats. Nutr Res. (11) : 797-806.
- 43. OBERLEAS, D. y HARLAND, B.** 1986. Métodos Análíticos para Fitatos. Ácido fítico: Química y Aplicaciones. Pilatus Press. Minneapolis. pp. 77-100.
- 44. PARELLÓ, J.** 2004. Fitato: Estudios sobre su Actividad Biológica los Efectos sobre la Prevención de las Calcificaciones Patológicas. Tesis Doctoral en Química. Institut Universitari d' Investigació en Ciències de la Salut. Departament de Química. Universitat de les Illes Balears. Laboratori d' Investigació en Litiasis Renal. Palma de Mallorca. 121 p.
- 45. PEISKER, M.** 1994. Extrusion Communique. Management Science. (15) : 12-18.
- 46. PERLAS, LA. y GIBSON, RS.** 2005. Household dietary strategies to enhance the content and bioavailability of iron, zinc and calcium of selected rice- and maize-based Philippinicomplementary foods. Maternal and Child Nutrition. (4): 263-273.
- 47. PLAAMI, S.** 1997. Myoinositol Phosphates: Analysis, Content in Foods and Effects in Nutrition. Lebensm Wiss u Technol. (30) : 633-647.
- 48. PLAAMI, S. y KUMPULAINEN, J.** 1991. Determination of Phytic Acid in Cereals Using ICP-AES to Determine Phosphorus. J AOAC. (74) : 32-36.
- 49. PONEROS, AG. y ERDMAN, JW.** 1989. Bioavailability of Calcium from Sesame Seeds, Almond Powder, Whole Wheat Bread, Spinach and non-fat Dry Milk in Rats. J Food Sci. (54) : 150-153.

- 50. RACKIS, A.** 1974. Biological and Physiological Factors in Soybeans. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.* (51) : 16.
- 51. RANHOTRA, GS.** 1981. Bread (White and Whole Wheat) and not Fat Dry Milk as Sources of Bioavailable Calcium for Rats. *J Nutr.* (3) :2081-2086.
- 52. REBOLLAR, M.** 2002. Evaluación de Indicadores Productivos en Pollos de Engorde al incluir Maíz y Pasta de Soya Extrudidos y Malta de Cebada. Tesis de Grado en Maestro de Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima. Programa Interinstitucional en Ciencia Pecuarias. Colima –Colombia. 134 p.
- 53. RIVADENEIRA, M.** 2005. Inventario Técnico del Programa de Cereales. Quito – Ecuador. Proyecto: INIAP-DPI-IT-05/2005. pp 6-26.
- 54. SAUVEUR B.** 1989. *INRA Production Animal.* (2) : 343-351.
- 55. SVELKOU, F. VAN DER POOL, A. y TAMMINGA, S.** 1992. The Presence and Inactivation of Trypsin-Inhibitors, Tannins, Lectins, and Amylase-Inhibitors in Legume seeds During Germination. *Plants Foods Hum. Nutrición.* Washington, D.C. National Academy of Sciences. (42): 71-85.
- 56. SKOOG, DA. HOLLER, FJ. y NIEMAN, TA.** 2001. Principios de Análisis Instrumental. Madrid – España. McGraw-Hill. pp.28-30.
- 57. SOTELO, A. MENDOZA, J y ARGOTE, R.** 2002. Contenido de Ácido Fítico en Algunos Alimentos Crudos y Procesados. Validación de un Método Colorimétrico. *Journal of the Mexican Chemical Society.* Sociedad Química de México. México. (46): 301 – 306.
- 58. STOOKEY, L.** 1970. Ferrozine. A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Anual. Chem.* (42) : 779.

- 59. THOMPSON, LU. y SERRAINO, M.** 1986. Effect of Phytic Acid Reduction on Rapeseed Protein Digestibility and Aminoacid Absorption. *J Agric Food Chem.* (34) : 468-469.
- 60. VAN CAMPEN, DR. y GLAHN, RP.** 1999. Micronutrient Bioavailability Techniques: Accuracy, Problems and Limitations. *Field Crops Research.* (60) : 93-113.
- 61. VARELA, G. MOREIRAS-VARELA, O. y REQUEJO, A.**1985. “Estudios de Nutrición”. Publicaciones del Instituto Nacional de Estadística. Madrid – España. Vol. I y II.
- 62. VILLACRES, E.** 1996. Evaluación de la calidad maltera de la cebada en Ecuador. Primera Reunión Latinoamericana de Cebada Cervecera. Cochabamba, Bolivia : FAO/SNAG/IBTA. pp 185-202.
- 63. WYATT, CJ. y TRIANA-TEJAS, A.** 1994. Solubilidad e Insolubilidad de Fe, Zn, Ca y Fitatos en Alimentos Consumidos Habitualmente en el Norte de México, *J Agric Food Chem.* (42) : 204-209.
- 64. XU, P. PRICE, J. y AGGETT, P.J.** 1992. Program food and nutrition. pp. 16, 245-262.
- 65. PRIMO YÚFERA E.**1987. Química Agrícola III. Alimentos. Alhambra.Madrid. pp. 44 – 45.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

66. ÁCIDO FÍTICO

<http://www.iqb.es/diccio/a/acido.htm>.

20091221

67. ACTIVIDAD AGRÍCOLA: LA CEBADA

<http://www.monografias.com/trabajos35/la-cebada/la-cebada.shtml>.

20090205

68. AGRICULTURA. EL CULTIVO DE LA CEBADA

<http://www.infoagro.com/herbaceos/forrajes/cebada.htm>.

20080822

69. ANATOMÍA HUMANA - NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

http://www.natureduca.com/anat_nutric_nutrientes2.php

20100822

70. ANTINUTRIENTES

<http://es.wikipedia.org/wiki/Antinutriente>.

20110119

71. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN. ÁCIDO FÍTICO

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222002000300001&script=sci_arttext.

20100416

72. BENEFICIOS DEL ÁCIDO FÍTICO. PIÑEIRO, E.

<http://propiedadesalimentos.jaimaalkauzar.es/beneficios-del-acido-fitico.html>.

20080628

73. CEBADA

<http://www.protoleg.com.mx/cebada.htm>.

20080812

74. CEBADA

<http://www.supernatural.cl/cebada.asp>.

20081024

75. CEBADA PERLA PERLINA

<http://www.supernatural.cl/cebadaperlina.asp>.

20081102

76. CEBADA. ALIMENTO DE FILÓSOFOS

www.prama.com.ar/alimentos_saludables/cebada.htm.

20080604

77. CERVEZA DE ARGENTINA – MALTA.

<http://www.cervezadeargentina.com.ar/articulos/maltas.htm>.

20080922

**78. COMPONENTES DE LOS ALIMENTOS: NATURALEZA, CLASIFICACIÓN
Y FUNCIONES**

<http://metodosanpablo.com/Nutricion/03Alimentos/01componentesdelosalimentos.htm>.

20100916

79. COMPONENTES INDESEABLES (ANTINUTRIENTES)

http://portal.uam.es/portal/page/profesor/epd2_asignaturas/asig30088/informacion_academica/Presentaci%F3nCalidad24.pdf.

20100218

80. DIGESTIÓN – WIKIPEDIA

<http://es.wikipedia.org/wiki/Digesti%C3%B3n>.
20100914

81. DIGESTIÓN, ABSORCIÓN Y METABOLISMO

http://www.saludalia.com/Saludalia/web_saludalia/vivir_sano/doc/nutricion/doc/nueva_digestion.htm.
20100822

82. EL APARATO DIGESTIVO Y SU FUNCIONAMIENTO

<http://digestive.niddk.nih.gov/spanish/pubs/yrdd/>.
20100218

83. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/leia/choussy_c_d/apendiceC.pdf.
20100819

84. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA – ESPECTROMETRÍA

http://www.espectrometria.com/espectrometra_de_absorcin_atmica.
20100925

85. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AA)

[http://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_absorci%C3%B3n_at%C3%B3mica_\(AA\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_absorci%C3%B3n_at%C3%B3mica_(AA)).
20100717

86. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

http://www.xtec.cat/~gjimene2/llicencia/students/bscw.gmd.de_bscw_bscw.cgi_d32817116-3_____AAS_final.html.
20091022

87. FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN).

[http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID= 567
20090726](http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=56720090726)

88. FENALCE. CEBADA

[http://fenalce.org/pagina.php?p_a=50
20090612](http://fenalce.org/pagina.php?p_a=5020090612)

89. FITATO O ÁCIDO FÍTICO

[http://www.muydelgada.com/wiki/%C3%81cido_f%C3%ADtico/.
20100417](http://www.muydelgada.com/wiki/%C3%81cido_f%C3%ADtico/)

90. GERMINADO DE CEBADA

[http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=834.
20080622](http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=834.20080622)

91. GOTTAU G. LAS BONDADES DEL ÁCIDO FÍTICO

[http://www.vitonica.com/2008/01/30-las-bondades-del-acido-fitico.
20080130](http://www.vitonica.com/2008/01/30-las-bondades-del-acido-fitico.20080130)

92. HORDEUM VULGARE

[http://es.wikipedia.org/wiki/Hordeum_vulgare
20081027](http://es.wikipedia.org/wiki/Hordeum_vulgare20081027)

93. INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER - ÁCIDO FÍTICO

[http://www.cancer.gov/Templates/db_alpha.aspx?CdrID=44415&lang=sp
anish.
20100817](http://www.cancer.gov/Templates/db_alpha.aspx?CdrID=44415&lang=spanish.20100817)

94. LA DIGESTIÓN

<http://html.rincondelvago.com/la-digestion.html>.

20100706

95. LOS MINERALES Y SU IMPORTANCIA EN LA ALIMENTACIÓN

<http://www.zonadiet.com/alimentacion/l-minerales.htm>.

200110212

96. NUTRICIÓN EN INTERNET – ANTINUTRIENTES

<http://nutricioneninternet.com/ecm.php?gKhk2efRpApkQ2fSFXHLbBFsTY0p1aw>.

20101212

97. NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

http://html.rincondelvago.com/nutricion-y-dietetica_4.html.

20091018

98. PERLINA

<http://www.protoleg.com.mx/perlina.pdf>

20080626

99. PROCESO DE DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE NUTRIENTES

<http://www.kelloggs.es/nutricion/abcnutricion/pdf/capitulo13.pdf>.

20100922

100. PULEVA SALUD - CEREALES PARA EL DESAYUNO

http://www.pulevasalud.com/ps/subcategoria.jsp?ID_CATEGORIA=102519&RUTA=1-2-45-101-102519.

20100104

101. QUINTERO A. BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIMENTOS Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS.

www.alfa-
editores.com/historico/alimentaria/Nov%20Dic%202003%20IA%20Biodis
ponibilidad%20de%20Nutrimentos%20.pdf.
20100812

102. SISTEMAS REPRODUCCTIVOS

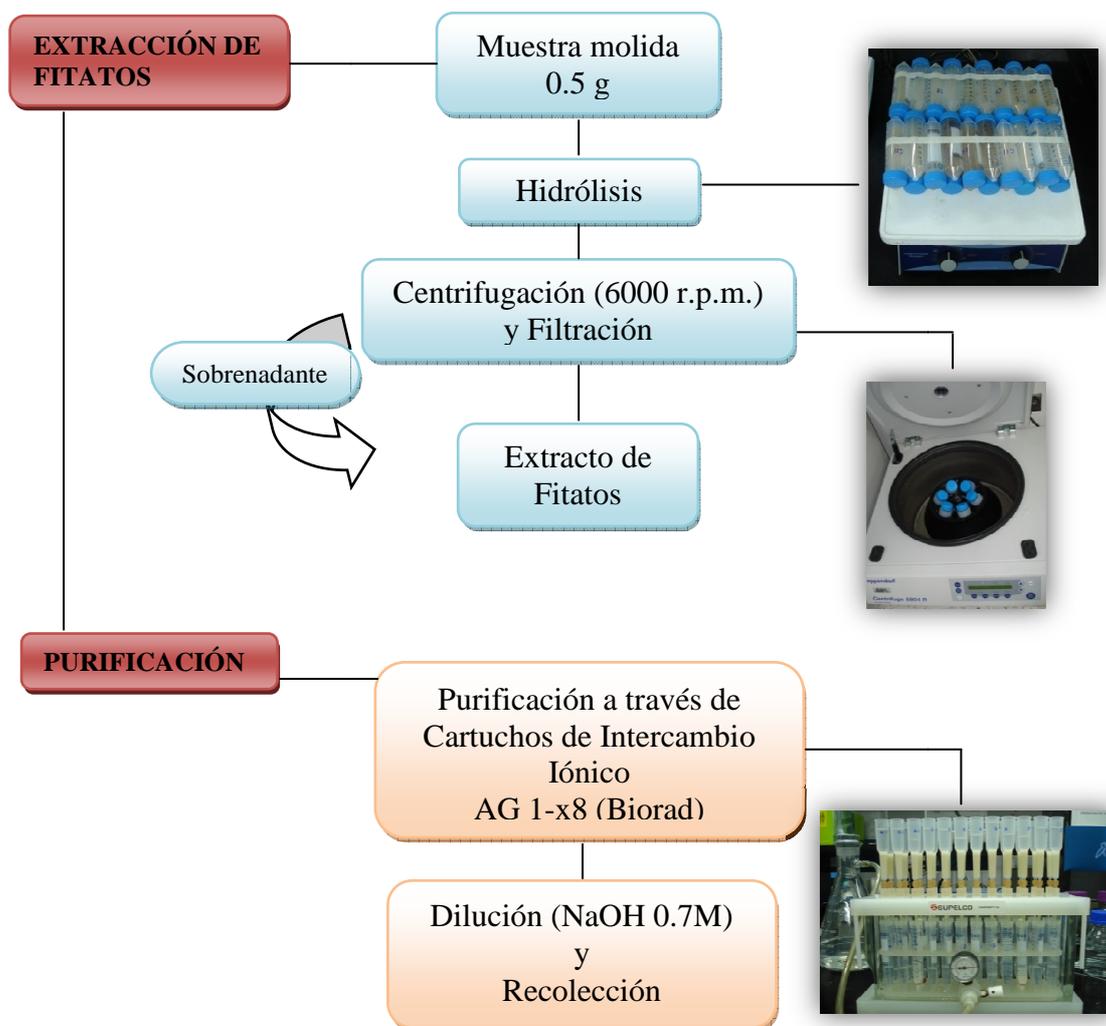
www.mejoravegetal.criba.edu.ar/.../capit1.htm.
20100904

103. TERAPIA BIOQUÍMICA NUTRICIONAL - ÁCIDO FÍTICO

www.solorzano.com.mx/jesus/naturismo/acido_fitico.html.
20100628

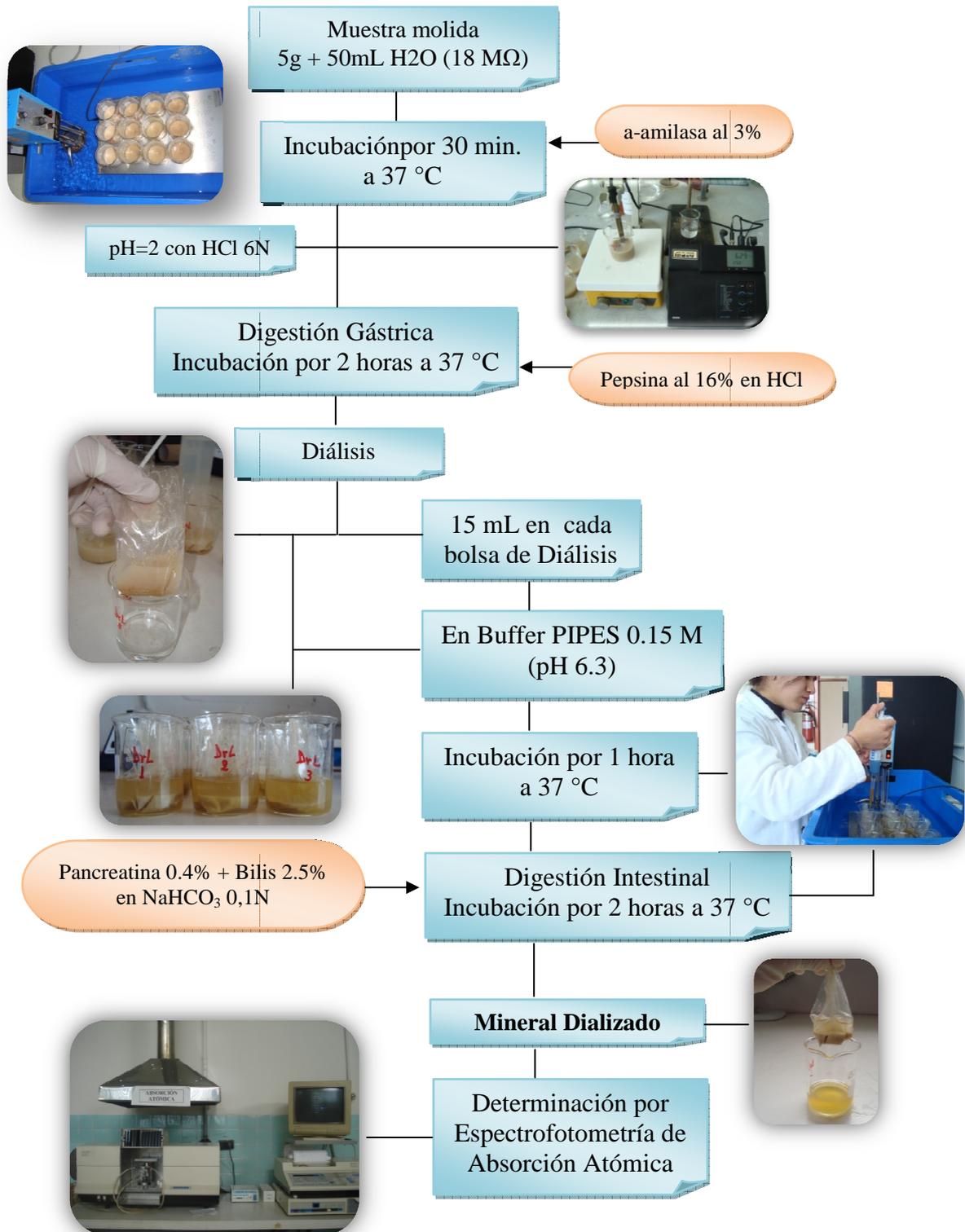
104. UTILIZACIÓN DEL FÓSFORO FÍTICO EN LA NUTRICIÓN DE LOS RUMIANTES

http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy3/articulos/n9/arti/godoy_s/arti/godoy_s.htm.
20091204

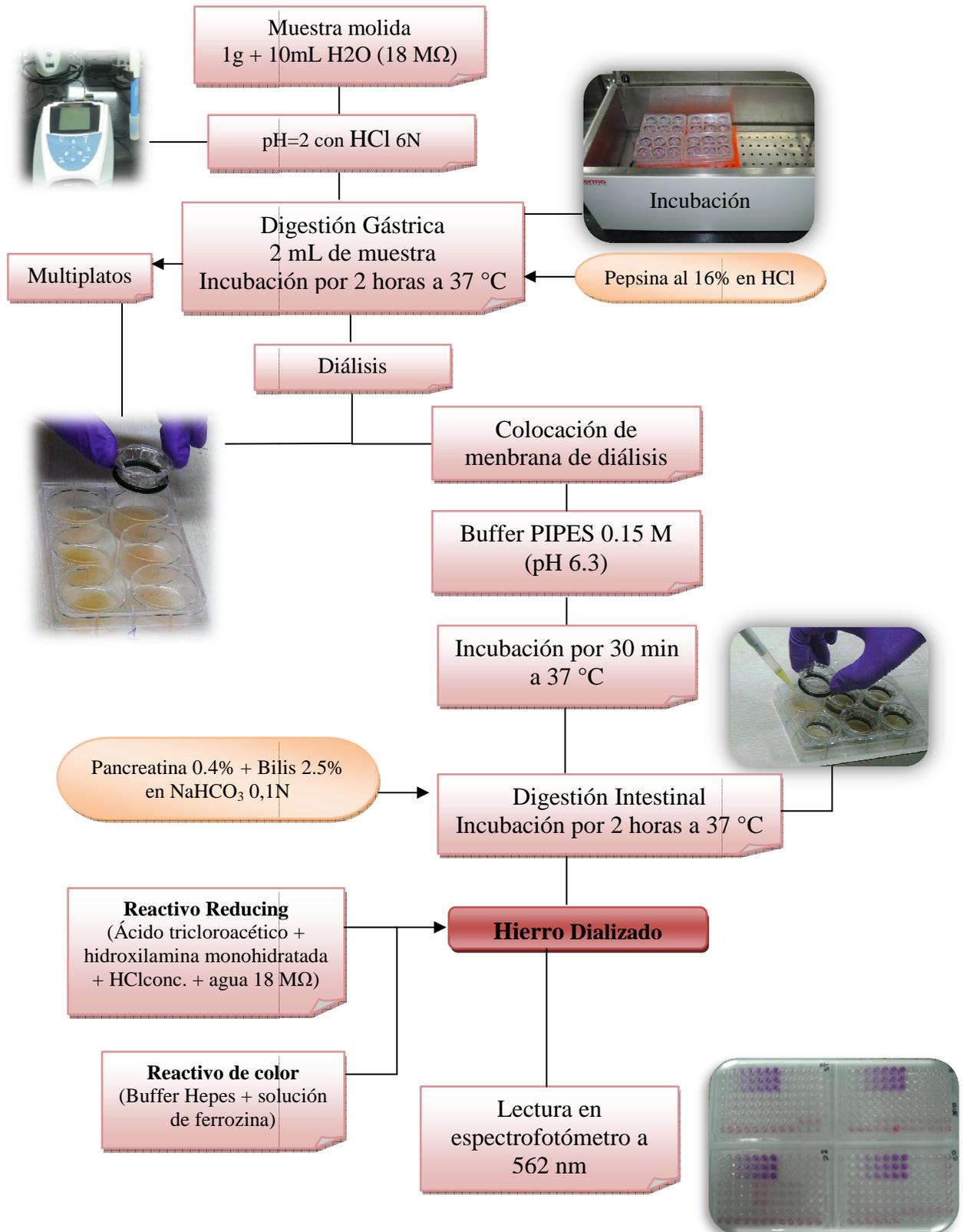
CAPITULO VIII**8. ANEXOS****ANEXO 1. ESQUEMA DEL ENSAYO DE CUANTIFICACIÓN DE FITATOS TOTALES POR COLORIMETRIA**



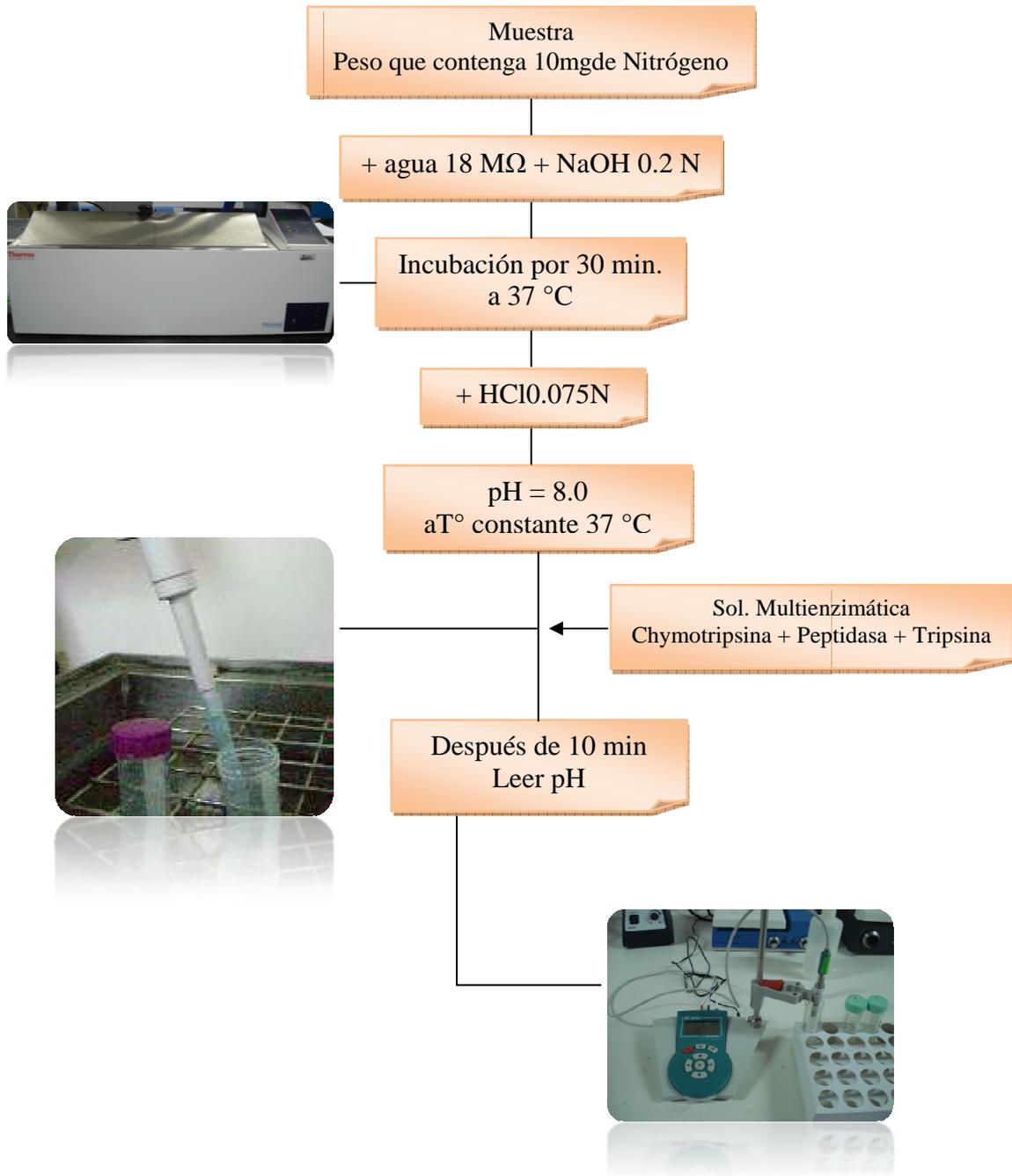
ANEXO 2. ESQUEMA DEL ENSAYO DE DETERMINACIÓN DE BIODISPONIBILIDAD “IN VITRO” DE MINERALES POR ABSORCIÓN ATÓMICA



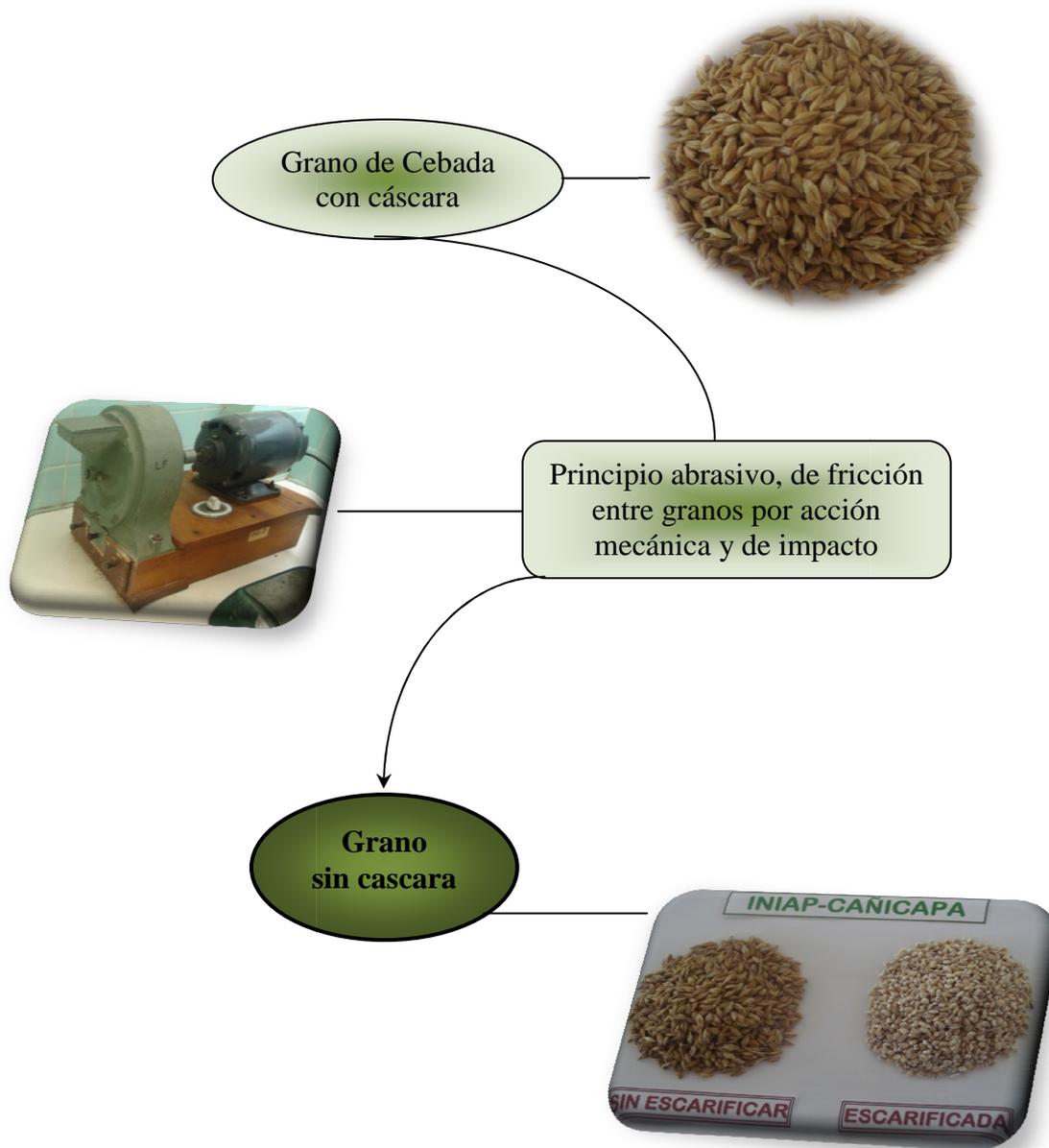
ANEXO 3. ESQUEMA DEL ENSAYO DE DETERMINACIÓN DE BIODISPONIBILIDAD “IN VITRO” DE HIERRO Y CUANTIFICACIÓN POR COLORIMETRÍA



ANEXO 4. ESQUEMA DEL ENSAYO DE DETERMINACIÓN DE BIODISPONIBILIDAD “IN VITRO” DE PROTEÍNA Y CUANTIFICACIÓN POR COLORIMETRÍA POR EL MÉTODO Hsu



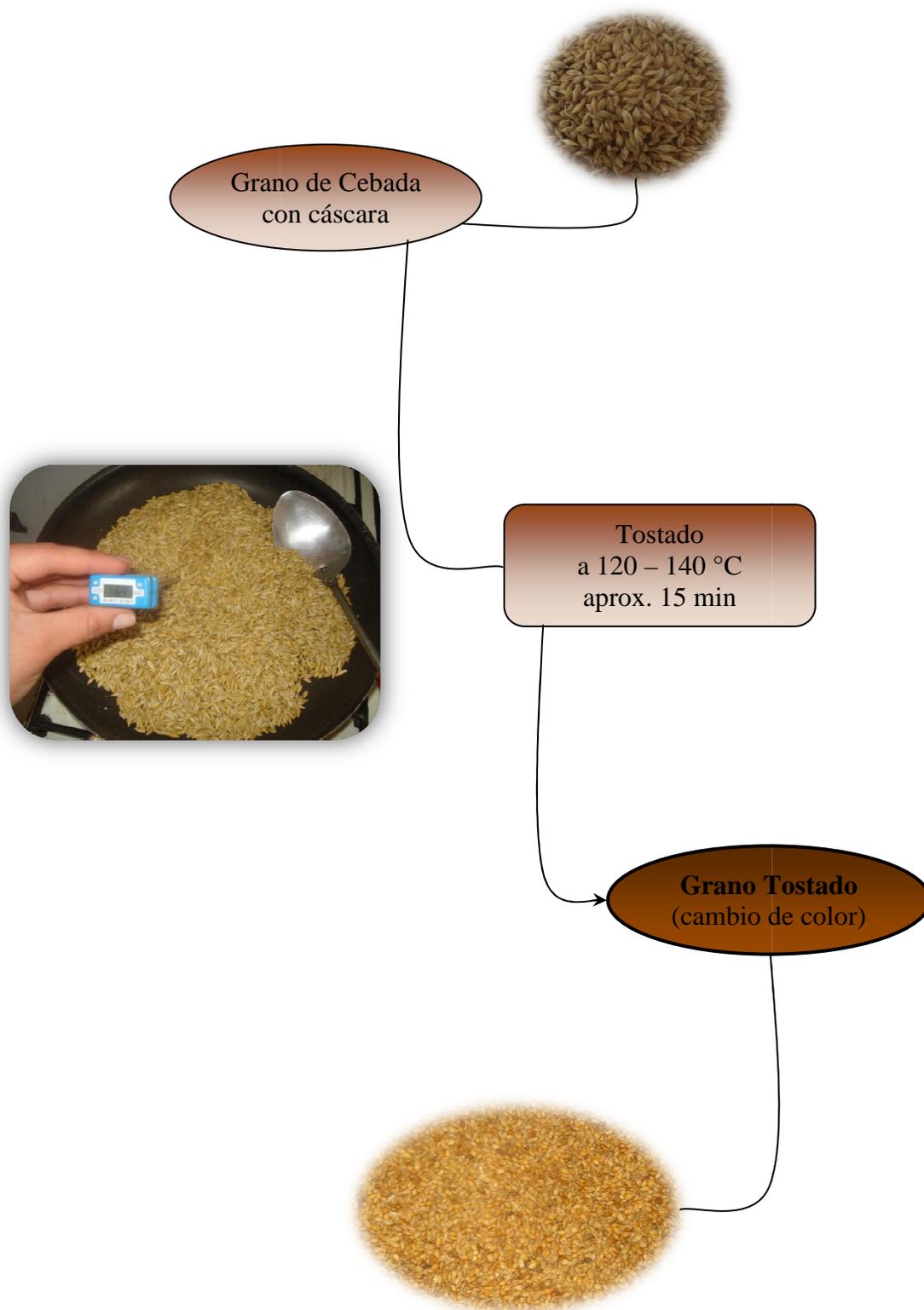
ANEXO 5. PROCESO DE ESCARIFICACIÓN



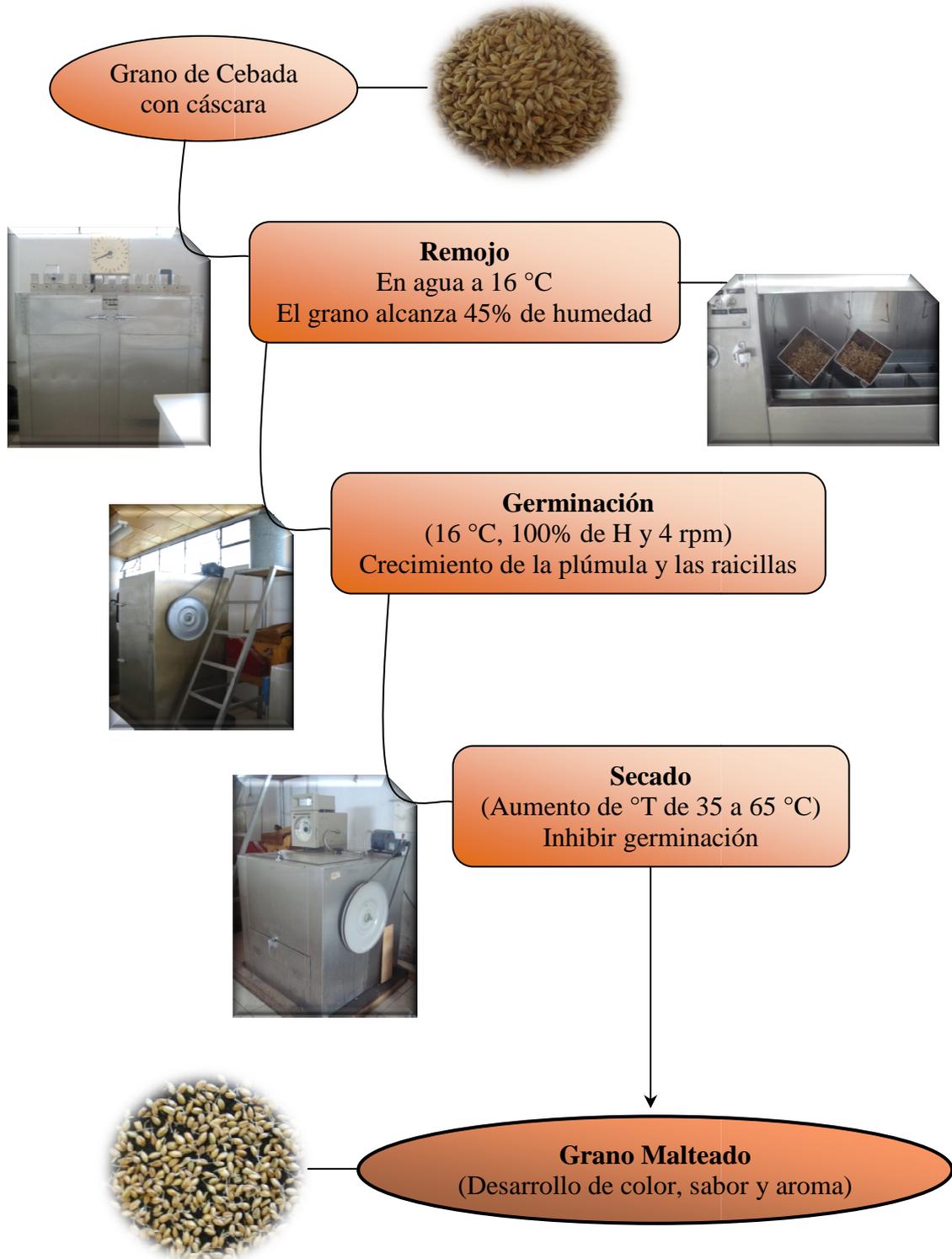
ANEXO 6. PROCESO DE LAMINADO



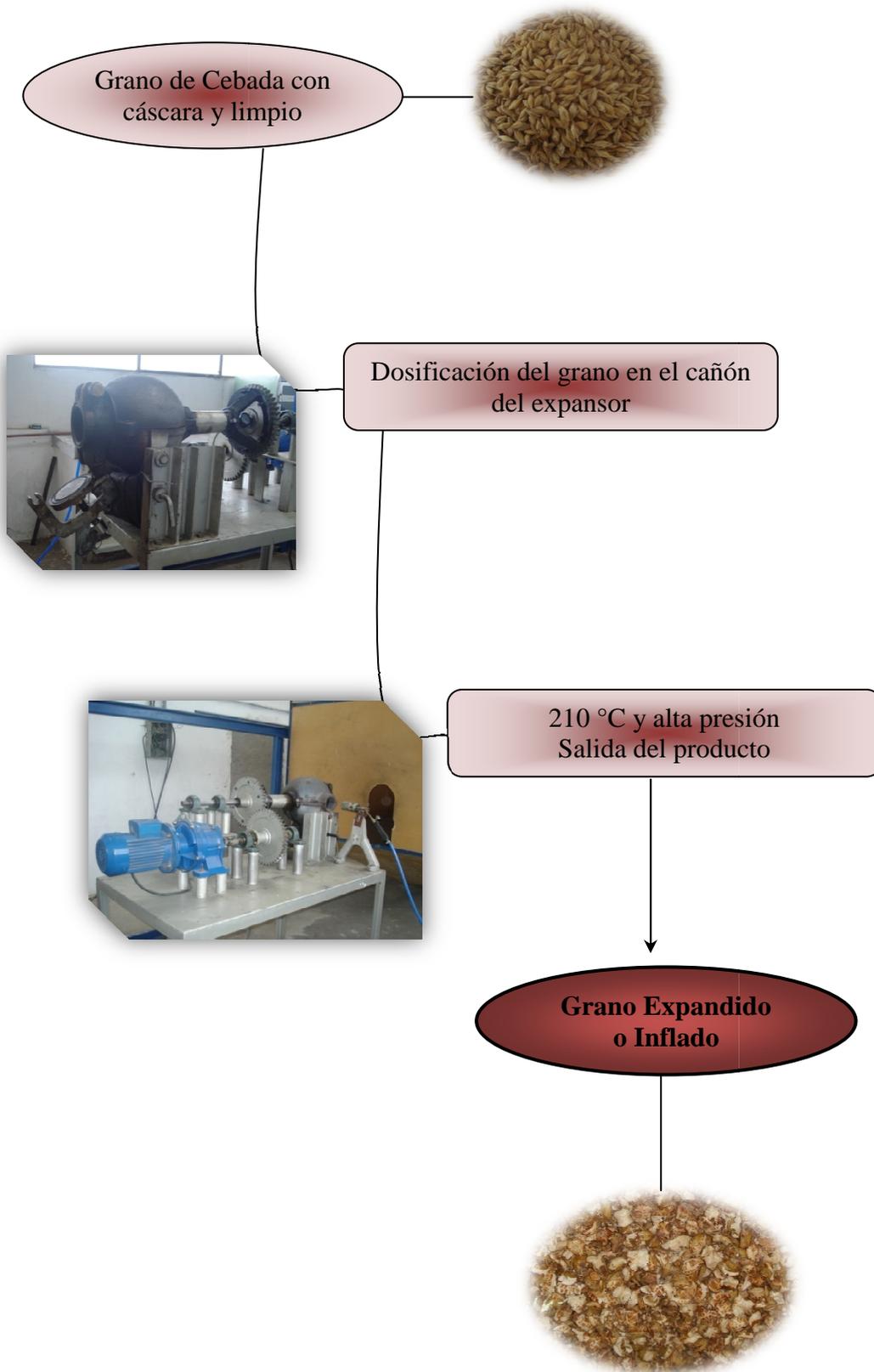
ANEXO 7. PROCESO DE TOSTADO



ANEXO 8. PROCESO DE MALTEADO



ANEXO 9. PROCESO DE EXPANSIÓN



ANEXO 10. PORCENTAJE DE AF DE LAS 174 LÍNEAS Y/O VARIEDADES AVANZADAS

| % AF DE LAS 174 LÍNEAS Y/O VARIEDADES AVANZADAS (g/100 de muestra) | | | |
|---|------------|-------------|----------------------------|
| LÍNEA Y/O VARIEDAD AVANZADA DE CEBADA | COD | % AF | RANGOS ESTADÍSTICOS |
| 10.INIAP-CAÑICAPA 2003 | 10 | 1,24 | A |
| 45. RECLA 86/3/7085-B/ND4994.15//ND7556/4/AZAF CBSS99M00218T-A-1M-1Y-1M-0Y-0E | 89 | 1,16 | B |
| 44. CERVECERA GUAMOTE | 44 | 1,1 | C |
| 30. INIAP-Cañicapa 03 | 74 | 1,1 | C |
| 37. LINEA ZUMBAHUA BLANCA (6H, DESNUDA) | 37 | 1,09 | C |
| 62. CHENG DU 105/5/LIGNEE640/PI382798//DC- B/3/MOLA/4/LINO/6/ PETUNIA 1 CBSS99M00414T-B-4M-2Y-1M-0Y-0E | 106 | 1,08 | C |
| 7. OPTIMA-BAR//BLLU//LA MOLINA 94 CBSW99WM00105T-1-1M-1Y-2M-0Y-0E | 51 | 1,02 | D |
| 31. TRIUMP-BAR/TYRA//ARUPO*2/ABN- B/3/CANELA/4/CANELA/ZHEDAR#2 CBSS99Y00031S-1Y-1M-2Y-0M-0E | 75 | 1,01 | DE |
| 26. LA MOLINA 94/PETUNIA 1 CBSS98WM00033S-0M-3Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 140 | 1,00 | DEF |
| 42. CANELA/PCF9201//MSEL CBSS99Y00408T-OTOPM-1Y-2M-1Y-2M-0Y-0E | 86 | 1,00 | DEF |
| 16. SCOTIA 1/WA1356.70//WA1245.68/BOYER/3/MJA/BRB2//QUINUA/4/L A MOLINA 94 CBSW99WM00116T-C-1M-2Y-1M-0Y-0E | 60 | 1,00 | DEFG |
| 26. BR2/LP//AZAF CBSS97M00656T-B-2M-1Y-2M-1Y-1M-1Y-0M-0E | 70 | 0,99 | DEFG |
| 1. INIAP-DORADA 71 | 1 | 0,99 | DEFGH |
| 66. TOCTE/TOCTE//BERROS/3/PETUNIA 1/4/CANTUA CBSS99M00324T-AR-1M-2Y-1M-0Y-0E | 110 | 0,98 | DEFGHI |
| 70. PENCO/CHEVRON-BAR//PETUNIA 1 CBSS99M00128S-3M-2Y-1M-0Y-0E | 114 | 0,97 | EFGHIJ |
| 15. RITA PELADA | 15 | 0,96 | EFGHIJK |
| 42. LEO-B/ALELI/4/SHYRI//GLORIA-BAR/COPAL/3/SHYRI/GRIT CMB94A.445-B-7M-2Y-2M-0Y-0E-0E-0E-0E | 156 | 0,95 | FGHIJK |
| 59. PENCO/CHEVRON- BAR/3/ATACO/BERMEJO//HIGO/4/PETUNIA 1 CBSS99M00419T-C-1M-2Y-2M-0Y-0E | 103 | 0,95 | GHIJKL |

| | | | |
|---|-----|------|----------|
| 49. GOB/ALELI//CANELA/3/SHYRI/ALELI CBSS99Y00043S-21Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 163 | 0,94 | GHIJKL |
| 44. ARUPO/K8755//MORA/3/CERISE/SHYRI//ALELI/4/CANELACBSS 96Y00426T-C-9Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E | 158 | 0,94 | HIJKLM |
| 2. INIAP-DUCHICELA 78 | 2 | 0,94 | HIJKLM |
| 25. GOB74DH/3/ARUPO/K8755//MORA/4/MSEL CBSS98M00060T-OTOPY-0M-3Y-2M-1Y-0M-0E | 69 | 0,94 | HIJKLM |
| 2. Posible CAÑICAPA | 46 | 0,93 | IJKLM |
| 38. LINEA ZUMBAHUA NEGRA (6H, DESNUDA) | 38 | 0,93 | JKLM |
| 44. MORA/NB1054/3/MOLA/SHYRI//ARUPO*2/JET/4/ZHEDAR#1/S HYRI//OLMO/5/BICHY2000 CBSS99M00293T-I-1M-1Y-1M-0Y-0E | 88 | 0,92 | JKLMN |
| 43. CHILE - GUAMOTE | 43 | 0,92 | JKLMN |
| 59. PENCO/CHEVRON- BAR/3/ATACO/BERMEJO//HIGO/4/PETUNIA 1 CBSS99M00419T-C-1M-2Y-2M-0Y-0E | 100 | 0,91 | KLMNO |
| 22. SAN PEDRO 1 (PELADA HEXASTICA) | 22 | 0,91 | KLMNO |
| 38. CANELA/PCF9201//MSEL CBSS99Y00408T-OTOPM-13Y-1M-1Y-1M-0Y-0E | 82 | 0,91 | KLMNO |
| 17. GOB/ALELI//CANELA/3/SHYRI/ALELI CBSS99Y00043S-8Y-2M-0Y-0E-0E-0E | 131 | 0,9 | LMNOP |
| 37. HLLA/GOB//HLLA/3/ALELI/4/ZHEDAR#1/SHYRI//OLMO CBSS99Y00421T-OTOPM-1Y-1M-2Y-2M-0Y-0E | 81 | 0,89 | MNOP |
| 49. PETUNIA 2/3/GAL/PI6384//ESC.II.72.607 .1E.4E.5E CBSS98Y00174S- 161Y-1B-0Y-0E | 93 | 0,89 | MNOP |
| 5. INIAP-CALICUCHIMA 92 | 5 | 0,88 | NOPQ |
| 61. TOCTE//HIGO/LINO/3/PETUNIA 2 CBSS99M00248T-P-3M-1Y-1M-0Y-0E | 105 | 0,87 | NOPQR |
| 3. EBC(A)PALTON//CABUYA CBSW99WM00073T-AA-1M-1Y-1M-0Y-0E | 47 | 0,87 | NOPQRS |
| 65. CHENG DU 89//PENCO/CHEVRON- BAR/3/CHAMICO/TOCTE// CONGONA CBSS99M00477T-P-2M-1Y-2M.0Y-0E | 109 | 0,87 | NOPQRST |
| 48. MSEL/LIBRA T95//AZAF CBSS98Y00612T-A-0Y-0M-2Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 162 | 0,87 | OPQRSTU |
| 69. PETUNIA 2/MNS1//PETUNIA 1 CBSS99M00447T-M-2M-1Y-1M-0Y-0E | 113 | 0,87 | OPQRSTU |
| 4. CANELA/AZAF CBSS96Y00301S-20Y-2M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E | 118 | 0,85 | PQRSTUW |
| 43. MOSQ/GUAY//MSEL CBSS99Y00406T-OTOPM-9Y-3M-1Y-2M-0Y-0E | 87 | 0,85 | PQRSTUWX |

| | | | |
|---|-----|------|-------------|
| 43. L.P//SHYRI//MSEL CBSS97Y00678T-C-2Y-1M-0E-0E-0E-0E | 157 | 0,85 | PQRSTUVWXYZ |
| 67. TOCTE/CIRU/PETUNIA 1 CBSS99M00403T-V-1M-2Y-1M-0Y-0E | 111 | 0,85 | PQRSTUVWXYZ |
| 41. GOB/ALELI/CANELA/3/MSEL/4/BICHY2000CBSS99M00290T-A- 2M-1Y-1M-0Y-0E | 85 | 0,85 | PQRSTUVWXYZ |
| 27.L.P/CANELA//SHYRI RINCO CBSS96M00419T-H-2M-2Y-2M-1Y-0E-0E-0E | 141 | 0,83 | QRSTUVWXYZ |
| 31. BONANZA (LINEA MALTERA CANADIENCE) | 31 | 0,83 | QRSTUVWXYZ |
| 24. CAPUCHONA | 24 | 0,83 | QRSTUVWXYZ |
| 50. INIAP-Cañicapa 03 | 164 | 0,83 | QRSTUVWXYZ |
| 27. ARUPO/K8755//MORA/3/BARONESE/4/MSEL CBSS97WM00094T-OTOPY-0M-3Y-2M-1Y-0M-0E | 71 | 0,83 | QRSTUVWXYZ |
| 56. MJA/BRB2//QUINA/5/DC-B/SEN/3/AGAVE/... CBSS99M00383D-8B-1Y-2B-1Y-0B-0E-0E-0E | 170 | 0,83 | QRSTUVWXYZa |
| 6. BLLU/CABUYA CBSS99M00159S-3M-1Y-1M-0Y-0E | 50 | 0,82 | RSTUWXYZab |
| 33. LINEA DE MACA | 33 | 0,82 | STUWXYZabc |
| 2. ANDES297.91/BSRD1.72 CBSS96M00247S-5E-2E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 116 | 0,82 | STUWXYZabc |
| 8. PETUNIA 2/3/TOCTE/TOCTE//BERROS/4/CABUYA CBSS99M00395T.Q-1M-2Y-1M-0Y-0E | 52 | 0,82 | TUWXYZabcd |
| 19. ARUPO/K8755//MORA/3/KS1294/4/LIMON CBSS98WM00215T-OTOPY-0M-1Y-2M-2Y-0M-0E | 63 | 0,82 | UWXYZabcde |
| 30. INIAP-Cañicapa 03 | 144 | 0,81 | WXYZabcdef |
| 46. ABN-B/KC- B//RAISA/3/ALELI/4/LIMON/5/BICHY2000CBSS99M00228T-K- 6M-1Y-1M-0Y-0E | 90 | 0,81 | WXYZabcdef |
| 9. BBSC/CONGONA//PIÑON/3/CANTUA CBSS99M00411T-D-2M-1Y-1M-0Y-0E | 53 | 0,81 | WXYZabcdef |
| 52. RHODES//TB-B/CHZO/3/GLORI- BAR/COPAL/4/ESC.II.72.83.3E.7E.5E.1E/5/ALELI CMB89A.915-A-1M-1Y-1B-0Y-0AP-0E-0E-0E | 166 | 0,81 | WXYZabcdef |
| 53. MJA/BRB2//QUINA/5/DC- B/SEN/3/AGAVE/YANALA//TUMBO/4/ CEN.B/2*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC.II.72.607.1E.4E. 5E CBSS99M00383D.8B-1Y-2B-1Y-0B-0E | 97 | 0,81 | WXYZabcdef |
| 26. COJITAMBO ZHULLIN (PELADA) | 26 | 0,8 | WXYZabcdefg |
| 23. MSEL/GOB67DH/3/ARUPO/K8755//MORA CBSS98Y00303T-D-0Y-0M-1Y-2M-1Y-0M-0E | 67 | 0,8 | WXYZabcdefg |
| 39. LINEA DE ZUMBAHUA (2H) | 39 | 0,8 | XYZabcdefg |

| | | | |
|---|-----|------|---------------|
| 60. INIAP-Dorada 71 | 174 | 0,8 | YZabcdefg |
| 50. INIAP-Dorada 71 | 94 | 0,79 | YZabcdefghi |
| 7. INIAP-SHYRI 2000 | 7 | 0,79 | YZabcdefghij |
| 25. ARUPO*2/KC- B//GOB/HUMAI10/3/CANELACBSS96M00409T-B-1M-2Y-1M- 0Y-0E-0E-0E-0E | 139 | 0,79 | YZabcdefghijk |
| 59. RABANO/4/DS4931//GLORIA- BAR/COPAL/3/SEN/5/LINO/6/... CBSS99M00287T-14B-1Y-0B-0E-0E-0E | 173 | 0,78 | Zabcdefghijkl |
| 32. ESCOBA/3/MOLASHYRI//ARUPO*2/JET/4/ALELI/5/GUAY/6/ALE LI CBSS99Y00309T-0TOPM-4Y-2M-1Y-0M-0E | 76 | 0,78 | abcdefghijklm |
| 64. DC-B/SEN/3/AGAVE/YANALA//TUMBO/4/CEN- B/2*CALI92/5/PETUNIA 1 /6/PETUNIA 2 CBSS99M00398T-B-3M-1Y-2M-0Y-0E | 108 | 0,77 | bcdefghijklmn |
| 11. INIAP-PACHA 2003 | 11 | 0,77 | cdefghijklmno |
| 60. INIAP-Atahualpa 92 | 104 | 0,77 | defghijklmnop |
| 14. TCTR/JANE/MSEL CBSS99Y00290T-0TOPM-5Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 128 | 0,77 | efghijklmnop |
| 6. INIAP-ATAHUALPA 92 | 6 | 0,76 | fghijklmnopq |
| 39. CONDOR- BAR/3/PATTY.B/RUDA//ALELI/4/ALELI/5/ARUPO/K8755//MOR A CBSS99M00054S-5M-1Y-1M-0Y-0E | 83 | 0,75 | ghijklmnopqr |
| 29. GOB/ALELI//CANELA/3/MSEL CBSS99Y00042S-13Y-1M-1Y-0M-0E | 73 | 0,75 | hijklmnopqrs |
| 5. CIRUELO CMB92.419-H-1Y-1M-1Y-1B-0Y-0E | 49 | 0,75 | hijklmnopqrs |
| 34. CM67-B/CENTENO//CAM-B/3/ROW906.73/4/GLORIA- BAR/COME-B/5/FALCON-BAR/6/LINO/7/NB1054/ALELI E98-9090-1E-2E-0E-0E-0E-0E-0E | 148 | 0,74 | ijklmnopqrst |
| 10. INIAP-Shyri 89 | 54 | 0,74 | ijklmnopqrst |
| 24. BR2/LP//AZAF CBSS97M00656T-B-2M-1Y-2M-1Y-1M-2Y-0M-0E | 68 | 0,74 | jklmnopqrstu |
| 13. CLERMON/ATLAS//BOLDO/MJA/3/TOCTE/FALCON-BAR CBSW99WM00093T-E-1M-2Y-1M-0Y-0E | 57 | 0,74 | jklmnopqrstu |
| 9. L.P/3/MMINK/ESC.II.72.83.3E.7E.5E.1E//SHYRI//4/CANELA CBSS97Y00681T-M-2Y-2M-1Y-0E-0E-0E | 123 | 0,74 | klmnopqrstu |
| 19. H93117/SEEBE M94020002 03/3S0053-0E-0E | 133 | 0,74 | klmnopqrstu |

| | | | |
|---|-----|------|--------------|
| 23. GOB89DH/3/ARUPO/K8755//MORA/4/MSEL CBSS96M00651T-E-6M-1Y-2M-0Y-0E-0E-0E-0E | 137 | 0,74 | klmnopqrstu |
| 68. PENCO/CHEVRON-BAR//PETUNIA 1CBSS99M00128S-3M- 2Y-2M-0Y-0E | 112 | 0,73 | lmnopqrstuv |
| 35. TRENDA (IMBABURA) | 35 | 0,73 | lmnopqrstuv |
| 18. L.P/CANELA//SHYRI CBSS96M00419T-H-2M-2Y-1M-1Y-0E-0E-0E-0E | 132 | 0,73 | lmnopqrstuvw |
| 35. NE175-B/GOB96DH//AZAF CBSS96M00675T-H-2M-1Y-1M-0Y-0FGR-0E-0E-0E-0E | 149 | 0,73 | lmnopqrstuvw |
| 33. LINAZA-BAR/JAZMIN/5/CEN-B/3/LBIRAN/UNA8271// CBSS95M00958T-G-4M-3Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E | 147 | 0,73 | lmnopqrstuvw |
| 40. INIAP-Pacha 03 | 84 | 0,72 | mnopqrstuvw |
| 29. SHYRI/4/GLORIA-BAR/COME-B//MC20/3/SHYRI/5/CANELA CBSS95Y00403T-P-19Y-1M-1Y-0M-0E-0E-0E-0E-0E | 143 | 0,72 | mnopqrstuvw |
| 58. PETUNIA 2/3/GAL/P16384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E CBSS98Y00174S-195Y-1B-2Y-3B-0Y-0E-0E-0E-0E-0E | 172 | 0,72 | nopqrstuvwxy |
| 14. TOCTE/PIÑON//PALTON CBSS99M00323T-W-2M-2Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E | 58 | 0,72 | opqrstuvwxyz |
| 3. DOBLE HAPLOIDE D1-99/4/ANCA/2469// VALERIANA "S"//SHYRI/3/NADJA/SHYRI//GLORIA"S"/COPAL"S" E99-9125-2E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 117 | 0,72 | opqrstuvwxyz |
| 15. BR2/GOB96DH//AZAF CBSS97M00659T-G-1M-1Y-2M-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E | 129 | 0,72 | pqrstuvwxyz |
| 51. MJA/BRB2//QUINA/5/DC-B/SEN/3/AGAVE/ CBSS99M00383D-5B-2Y-2B-1Y-0B-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 165 | 0,71 | qrstuvwxyz0 |
| 18. TRANCA 1 | 18 | 0,71 | rstuvwxyz0 |
| 22. GOB96DH/3/ND10277/SHYRI//ND11231/SHYRI/4/AZAF CBSS96M00681T-Y-2M-1Y-2M-0Y-0F-GR-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 136 | 0,71 | rstuvwxyz0 |
| 46. LEO//UNA 80/LIGNEE 527 E99-9110-4E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 160 | 0,71 | rstuvwxyz0 |
| 7. SHIRY//GLENN-BAR*6/ABN-B C12376/3/MSEL CBSS96M00188S-7M-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 121 | 0,70 | rstuvwxyz01 |
| 32. LBIRAN/UNA8271//GLORIA-BAR/COME-B/3/SHYRI CBSS95Y00209S-21Y-2M-3Y-0M-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 146 | 0,70 | stuvwxyz01 |
| 63. MJA/BRB2//QUINA/3/PETUNIA 2 CBSS99M00020S-18M-2Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 107 | 0,70 | stuvwxyz01 |
| 54. TOCTE/3/GAL/P16384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E/4/BOLDO/MJACB SS98Y00174S-52Y-1B-1Y-2B-0Y-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 168 | 0,70 | stuvwxyz01 |
| 47. MJA/BRB2//QUINA/5/DC- B/SEN/3/AGAVE/YANALA//TUMBO/4/CEN.B/2*CALI92/6/TOCT E/3/GAL/PI6384//ESC.II 72.607.1E.4E.5E CBSS99M00383D-5B-2Y-2B-1Y-0B-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 91 | 0,69 | tuvwxyz012 |

| | | | |
|--|-----|------|-------------|
| 13. ZHEDAR#1/4/SHYRI//GLORIA-BAR/COPAL/3/SHYRI 2000/5/ARUPO/K6755//MORA CBSS95Y00316T-A-5Y-1M-2Y-1M-0Y-0F-GR-DF-GR-0E-0E-0E-0E-0E | 127 | 0,69 | uvwxyz012 |
| 10. INIAP-Cañicapa 03 | 124 | 0,68 | vwxyz0123 |
| 3. INIAP-TERAN 78 | 3 | 0,68 | vwxyz01234 |
| 11. TOCTE/4/SEN/SLLO/3/AMAPA/COTA//GLORIA-BAR/COPAL/5/ROBUST//GLORIA-BAR/COPAL CBSS98WM00177T-OTOPY-0M-2Y-2M-1Y-1M-0Y-0E | 55 | 0,68 | vwxyz012345 |
| 9. INIAP-COÑORI 2003 | 9 | 0,68 | wxyz0123456 |
| 12. H93012/SEEBE H94023001 03/3 T0005-0E-0E-0E | 126 | 0,67 | xyz0123456 |
| 34. ATAH92/GOB//F101.78/3/ARUPO/K8755//MORA CBSS97MOO686T-B-1M-1Y-1M-1Y-1M-0Y-0E | 78 | 0,67 | yz0123456 |
| 39. POST/3/SAIDA/ROW906.73//LIGNEE527 CBWS97WM00071S-3WM-4WM-1Y-0M-0E | 153 | 0,67 | z0123456 |
| 28. ARUPO/K8755//MORA/3/ATAH 92/4/LP/SHYRI/5/MSEL CBSS99M00201T-E-2M-1Y-1M-0Y-0E | 72 | 0,67 | z0123456 |
| 55. P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA 1 CBSS97M00850T-T-1M-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E | 169 | 0,66 | 1234567 |
| 16. ATACO/COMINO//ALEL/3/MSEL/4/ND10277/SHYRI//ND1123/S HYRI CBSS98WM00073T-OTOPY-0M-1Y-2M-0Y-0E-0E-0E | 130 | 0,65 | 12345678 |
| 1. FRANCISCANA | 45 | 0,65 | 23456789 |
| 6. ND10277/SHIRY//ND11231/SHIRY/3/AZAF/4/CANELA/GOB96D H CBSS96M0D689D-D-1M-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E | 120 | 0,65 | 23456789 |
| 20. INIAP-Shyri 2000 | 64 | 0,65 | 23456789 |
| 27. TENTA LOJA (GRANO NEGRO) | 27 | 0,65 | 23456789 |
| 11. L.P/3/MMINK/ESC.II.72.83.3E.7E.5E.1E//SHYRI/4/CANELACBSS 97Y00681T-N-2Y-1M-1Y-0E-0E-0E | 125 | 0,64 | 23456789 |
| 4. QUINN/ALOE//CARDO/3/CIRU CBSS99M00038S-11M-1Y-1M-0Y-0E | 48 | 0,64 | 23456789 |
| 17. DURRA/PETUNIA 1//TOCTE/FALCON-BAR CBSW99M00042T-B-2M-1Y-1M-0Y-0E | 61 | 0,64 | 3456789.A |
| 52. MJA/BRB2//QUINA/5/DC- B/SEN/3/AGAVE/YANALA//TUMBO/4/ CEN.B/2*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC.II.72.607.1E.4E. 5E CBSS99M00383D-14B-2Y-1B-1Y-0B-0E | 96 | 0,63 | 3456789.A |

| | | | |
|---|-----|------|------------------|
| 38. BOLIVIANA//NACHA 2/CALICUCHIMA 1 E97-9076-2E-0EC-2E-0E-0E-0E | 152 | 0,63 | 3456789.A.B |
| 8. INIAP-QUILOTOA 2003 | 8 | 0,63 | 456789.A.B |
| 41.CUMBIJIN | 41 | 0,63 | 456789.A.B |
| 24. 64S:550/AZAF//MSEL CBSS97Y00683T-C-2Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E | 138 | 0,63 | 56789.A.B |
| 28. TENTA (GRANO BLANCO) | 28 | 0,63 | 56789.A.B |
| 42. MARGARITA - CHUQUIPOGLIO | 42 | 0,63 | 6789.A.B.C |
| 28. CAMELOT/ALELI CBSS95Y001958-15Y-2M-3Y-0M-0E-0E-0E | 142 | 0,62 | 6789.A.B.C |
| 54. RABANO/4/DS4931//GLORIA- BAR/COPAL/3/SEN/5/LINO/6/PETUNIA 1/7/ATACO/BERMEJO//HIGO/3/CLN-B/80.5138//GLORIA-BAR/ COPAL/4/CHEVRON-BAR CBSS99M00287T-14B-1Y-0B-0E | 98 | 0,61 | 789.A.B.C.D |
| 4. INIAP-SHYRI 89 | 4 | 0,61 | 89.A.B.C.D.E |
| 40. LINEA DE ZUMBAHUA (2H) | 40 | 0,60 | 89.A.B.C.D.E.F |
| 45. SVANHALS-BAR/MSEL CBSS96WM00050S-5E-4E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 159 | 0,60 | 89.A.B.C.D.E.F |
| 29. LA RAYA LOJA (GRANO NEGRO) | 29 | 0,60 | 89.A.B.C.D.E.F |
| 36. GAL/P16384//ESC-II-72-607-1E-4E-5E/3/PIÑON CBSS00M00190S-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 150 | 0,60 | 89.A.B.C.D.E.F |
| 14. BOLIVIANA | 14 | 0,60 | 9.A.B.C.D.E.F |
| 47. INIAP SHYRI 2000//UNA 80/LIGNEE 527 E99-9112-1E-0E-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 161 | 0,59 | 9.A.B.C.D.E.F.G |
| 15. ENCINO/CIRU//CABUYA CBSS99Y00328T-0TOPM-4Y-1M-1Y-2M-0Y-0E | 59 | 0,59 | .A.B.C.D.E.F.G.H |
| 22. CLAUDIA-BAR/DS4886//SHYRI/3/MSEL/4/CANELA CBSS98Y00552T-D-0Y-0M-1Y-1M-1Y-0M-0E | 66 | 0,59 | .A.B.C.D.E.F.G.H |
| 55. MOLA/BERMEJO//NISPERO/5/CM67-B/CENTENO//CAM- B/3/ ROW906.73/4/GLORIA- BAR/COME/6/LINO/7/PIÑON/8/PETUNIA 1CBSS99M00353T-G- 1M-1Y-1M-0Y-0E | 99 | 0,58 | .B.C.D.E.F.G.H |
| 40. INIAP-Dorada 71 | 154 | 0,58 | .B.C.D.E.F.G.H |
| 1. FRANCISCANA | 115 | 0,58 | .C.D.E.F.G.H |
| 33. ACUARIO T95/BR2//MSEL CBSS98M00025T-0TOPY-0M-5Y-1M-1Y-0M-0E | 77 | 0,57 | .D.E.F.G.H.I |
| 21. TRIUMP-BAR/TYRA//ARUPO*2//ABN- B/3/CANELA/4/CANELA/ZHEDAR2 CBSS99Y00031S-15Y-1M-1Y-0M-0E | 65 | 0,57 | .D.E.F.G.H.I |

| | | | |
|---|-----|------|------------------|
| 51. MJA/BRB2//QUINA/5/DC- B/SEN/3/AGAVE/YANALA//TUMBO/4/ CEN.B/2*CALI92/6/TOCTE/3/GAL/PI6384//ESC.II.72.607.1E.4E. 5E CBSS99M00383D-14B-2Y-2B-0Y-0E | 95 | 0,57 | .D.E.F.G.H.I |
| 5. NE 175-B/GOB96DH//AZAF CBSS96M00675T-H-2M-1Y-1M-0Y-0FGR-0E-0E-0E-0E-0E | 119 | 0,57 | .D.E.F.G.H.I |
| 12. ALPHA- BAR/DURRA//CORACLE/3/ALELI/4/MPYT169.1Y/LAUREL// OLMO/5/GLORIA-BAR/COPAL//PM5/BEN/3/SEN/6/PETUNIA 1 CBSS99Y00032S-11Y-2M-2Y-1M-0Y-0E | 56 | 0,57 | .D.E.F.G.H.I.I.J |
| 20. INIAP-Dorada 71 | 134 | 0,56 | .D.E.F.G.H.I.I.J |
| 41. FRANCISCANA | 155 | 0,56 | .E.F.G.H.I.I.J.K |
| 53. GAL/P16384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E/5/DC-B/ CBSS99M00357T-35B-2Y-1B-1Y-0B-0E-0E-0E | 167 | 0,56 | .F.G.H.I.I.J.K.L |
| 37. H93089/SEEBE H94034003 03/3T0006-0E-0E-0E | 151 | 0,54 | .G.H.I.I.J.K.L |
| 30. STIRLING (LINEA MALTERA AUSTRALIANA) | 30 | 0,54 | .H.I.I.J.K.L |
| 21. BENDELECHE 2 | 21 | 0,52 | .I.J.K.L.M |
| 57. GAL/P16384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E/5/DC-B/... CBSS99M00357T-35B-2Y-1B-2Y-0B-0E-0E-0E | 171 | 0,52 | .J.K.L.M |
| 17. LEO | 17 | 0,51 | .J.K.L.M |
| 18. TRIUMPH-BAR/TYRA//ARUPO*2/ABN- B/3/CANELA/4/ZHEDAR 1/SHYRI//OLMO/5/BICHY 2000 CBSS99M00229T-F-5M-2Y-1M-0Y-0E | 62 | 0,51 | .J.K.L.M |
| 48. GAL/PI6384//ESC.II.72.607.1E.4E.5E/5/DC- B/SEN/3/AGAVE/YANALA// TUMBO/4/CEN.B/2*CALI92/6/GLORIA-BAR/COME CBSS99M00357T-35B-2Y-1B-1Y-0B-0E | 92 | 0,51 | .K.L.M |
| 36. CANELA/ZHEDAR#2//LIMON/3/MSELCBSS98M00077T- OTOPY-0M-1Y-1M-1Y-1M-0Y-0E | 80 | 0,51 | .K.L.M.N |
| 8. L.P/3/MMINK/ESC.II.72.83.3E.7E.5E.1E//SHYRI/4/CANELA CBSS97Y00681T-B-3Y-1M-1Y-0E-0E-0E | 122 | 0,50 | .L.M.N |
| 32. LINEA DE PIMANPIRO | 32 | 0,48 | .M.N.O |
| 12. CUPPER | 12 | 0,48 | .M.N.O |
| 35. ACUARIO T95/BR2//MSEL CBSS98M00025T-OTOPY-0M-1Y-2M-1Y-0M-0E | 79 | 0,47 | .M.N.O.P |
| 34. CHAUCHA (IMBABURA) | 34 | 0,47 | .M.N.O.P.Q |
| 21. FRANCISCANA | 135 | 0,46 | .N.O.P.Q |
| 36. MARÍA JUANA | 36 | 0,43 | .O.P.Q.R |

| | | | |
|--|-----|------|----------|
| 57. RABANO/4/DS4931//GLORIA-BAR/COPAL/3/SEN/5/LINO/6/ PIÑON/7/CHAMICO/TOCTE//CONGONA CBSS99M00374T-E-3M-2Y-2M-0Y-0E | 101 | 0,42 | .P.Q.R.S |
| 25. NABON | 25 | 0,42 | .Q.R.S |
| 58. PIÑON/CANTUA/5/ATACO/BERMEJO//HIGO/3/CLN- B/80.5138//GLORI- BAR/COPAL/4/CHEVRON-BAR CBSS99M00284T-A-4M-2Y-1M-0Y-0E | 102 | 0,42 | .Q.R.S |
| 19. TRANCA 2 | 19 | 0,40 | .R.S.T |
| 31. ANCA/2469//TOJI/3/SHYRI/4/81S.508/5/MPYT169.1Y/LAUREL/ /OLMO CMB93-760-D-4Y-1Y-1M-0Y-0E-0E-0E-0E-0E-0E | 145 | 0,39 | .R.S.T |
| 16. GRIT | 16 | 0,39 | .R.S.T |
| 20. BENDELECHE 1 | 20 | 0,37 | .S.T |
| 13. FRANCISCANA | 13 | 0,37 | .T |
| 23. PELADA 2 (PELADA HEXASTICA) | 23 | 0,36 | .T |

ANEXO 11. PORCENTAJES DE PROTEÍNA TOTAL Y DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA

| % DE PROTEÍNA TOTAL Y DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA (g / 100 g de muestra) | | | |
|---|--------------|------------------------|---------------------------------|
| LÍNEA Y/O VARIEDAD | PROCESO | Proteína Total % | Digestibilidad Proteína % |
| DORADA | Crudo | 8,31 | 72,72 |
| | Escarificado | 8,08 | 73,81 |
| | Laminado | 7,82 | 73,32 |
| | Tostado | 8,48 | 72,30 |
| | Malteado | 8,4 | 74,59 |
| | Expandida | 8,29 | 69,88 |
| CAÑICAPA | Crudo | 11,63 | 72,42 |
| | Escarificado | 11,22 | 74,53 |
| | Laminado | 12,41 | 73,14 |
| | Tostado | 12,06 | 75,49 |
| | Malteado | 12,4 | 73,38 |
| | Expandida | 12,54 | 71,69 |
| RITA PELADA | Crudo | 12,97 | 72,30 |
| | Escarificado | 10,91 | 73,08 |
| | Laminado | 11,25 | 73,81 |
| | Tostado | 12,32 | 73,99 |
| | Malteado | 12,38 | 74,89 |
| | Expandida | 11,66 | 71,09 |
| DUCHICELA | Crudo | 10,73 | 71,75 |
| | Escarificado | 10,06 | 74,05 |
| | Laminado | 11,37 | 71,57 |
| | Tostado | 10,34 | 73,02 |
| | Malteado | 12,84 | 73,26 |
| | Expandida | 11,06 | 70,61 |

ANEXO 12. DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

METODOLOGÍA

1. Características del Sitio Experimental.

- Laboratorio de Nutrición y Calidad, INIAP, Estación Experimental Santa Catalina

Ubicación

| | |
|------------|------------|
| Provincia: | Pichincha |
| Cantón: | Mejía |
| Parroquia: | Cutuglagua |

Situación Geográfica

| | |
|-----------|----------|
| Altitud: | 3058 m |
| Latitud: | 00°22'S. |
| Longitud: | 78°23'O |

2. Ensayo 1: Determinación de la variabilidad del contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

Factor en estudio: Líneas avanzadas y/o variedades de cebada (174).

a. Unidad experimental

Estará constituida por 50 g de cebada.

b. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar, con tres observaciones por línea y/o variedad, según el esquema del Cuadro 1.

c. Tratamientos

Los tratamientos están constituidos por 174 líneas avanzadas y/o variedades de cebada, las mismas que se detallan en el anexo 10.

d. Análisis estadístico

CUADRO 1. Esquema del análisis de varianza para la determinación del contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Fuente de variación | Grados de Libertad |
|---------------------|--------------------|
| Total | 521 |
| Tratamientos | 173 |
| Error | 348 |

e. Análisis funcional

De establecerse significación estadística para los tratamientos, se aplicará la prueba de Tukey al 5%.

f. Variables y métodos de evaluación

Se evaluará el contenido de ácido fítico (descripción detallada del método consta en la parte experimental).

g. Manejo específico del experimento

Las líneas avanzadas y/o variedades de cebada serán proporcionadas por el Programa de Cereales. En estos materiales se determinará el contenido de humedad para expresar los resultados en base seca. Todas las muestras serán molidas y tamizadas por una malla de 0.5 mm de diámetro con el fin de obtener harina fina, la que se almacenará en refrigeración hasta el momento del análisis, según la metodología detallada en la parte experimental.

3. Ensayo 2: Evaluación del efecto de varios procesos sobre el contenido de ácido fítico, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

De los materiales comprendidos en el ensayo 1, se seleccionarán un máximo de cuatro líneas y/o variedades, con mayor contenido de ácido fítico, las que serán sometidas a los procesos especificados en el Cuadro 2.

Factor en estudio: Líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

CUADRO 2. Factores en estudio para determinar el efecto del procesamiento sobre el contenido de ácido fítico, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Factor | Descripción | Nivel |
|--------|---|--|
| a | Líneas avanzadas y/o variedades de cebada | a ₁ línea y/o variedad 1 a ₂ línea y/o variedad 2 a ₃ línea y/o variedad 3 a ₄ línea y/o variedad 4 |

| | | |
|---|-----------------|---|
| b | Tipo de proceso | b ₁ Escarificación b ₂ Tostado b ₃ Laminado b ₄ Malteado b ₅ Expandido |
|---|-----------------|---|

a. Unidad experimental

Estará constituida por 50 g de cebada procesada.

b. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 4x5, con tres repeticiones por tratamiento.

c. Tratamientos

Los tratamientos resultan de la combinación de los factores en estudio (Cuadro 3).

CUADRO 3. Tratamientos para determinar el efecto de varios procesos, sobre el contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Tratamientos | Descripción |
|-------------------------------|---|
| a ₁ b ₁ | Línea avanzada y/o variedad 1, escarificada |
| a ₁ b ₂ | Línea avanzada y/o variedad 1, tostada |
| a ₁ b ₃ | Línea avanzada y/o variedad 1, laminada |
| a ₁ b ₄ | Línea avanzada y/o variedad 1, malteada |
| a ₁ b ₅ | Línea avanzada y/o variedad 1, expandida |
| a ₂ b ₁ | Línea avanzada y/o variedad 2, escarificada |
| a ₂ b ₂ | Línea avanzada y/o variedad 2, tostada |
| a ₂ b ₃ | Línea avanzada y/o variedad 2, laminada |
| a ₂ b ₄ | Línea avanzada y/o variedad 2, malteada |
| a ₂ b ₅ | Línea avanzada y/o variedad 2, expandida |
| a ₃ b ₁ | Línea avanzada y/o variedad 3, escarificada |
| a ₃ b ₂ | Línea avanzada y/o variedad 3, tostada |
| a ₃ b ₃ | Línea avanzada y/o variedad 3, laminada |
| a ₃ b ₄ | Línea avanzada y/o variedad 3, malteada |
| a ₃ b ₅ | Línea avanzada y/o variedad 3, expandida |
| a ₄ b ₁ | Línea avanzada y/o variedad 4, escarificada |
| a ₄ b ₂ | Línea avanzada y/o variedad 4, tostada |
| a ₄ b ₃ | Línea avanzada y/o variedad 4, laminada |
| a ₄ b ₄ | Línea avanzada y/o variedad 4, malteada |
| a ₄ b ₅ | Línea avanzada y/o variedad 4, expandida |

d. Análisis estadístico

CUADRO 4. Esquema del análisis de varianza para determinar el efecto de varios procesos, sobre el contenido de ácido fítico en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Fuente de variación | Grados de Libertad |
|--|--------------------|
| Total | 59 |
| Repeticiones | 2 |
| Factor a (Líneas avanzadas y/o variedades de cebada) | 3 |
| Factor b (Tipo de proceso) | 4 |
| Interacción axb | 12 |
| Error Experimental | 40 |

e. Análisis funcional

Para los factores e interacciones que presentan significación estadística, se aplicará la prueba de Tukey al 5%.

f. Variables y métodos de evaluación

Se evaluará el contenido de ácido fítico (descripción del método consta en la parte experimental).

g. Manejo específico del experimento

De los materiales comprendidos en el ensayo 1, se seleccionarán un máximo de cuatro líneas y/o variedades, con mayor contenido de ácido fítico, las que serán sometidas a los procesos especificados en el Cuadro 2.

El escarificado del grano se realizará aplicando un sistema abrasivo durante unos 30 segundos.

El laminado se realizará a partir del grano perlado, acondicionado y prensado en un sistema de rodillos calientes a 200 °C. El tostado, se llevará a cabo en un tambor rotatorio, a 120 °C, durante 15 minutos.

El grano perlado será acondicionado y expandido a 170 psi de presión, para la obtención de cebada expandida. Mientras que el grano malteado, se obtendrá, mediante remojo por 48 h, germinación durante 4 días, a 100 % de humedad y 16 °C, tostado final, siguiendo un programa de temperatura hasta alcanzar 70 °C.

El material procesado será molido y tratado para la determinación de ácido fítico.

4. Ensayo 3: Determinación de la biodisponibilidad de minerales en líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada.

De los materiales contemplados en el ensayo 1 se seleccionarán las líneas y/o variedades con mayor contenido de ácido fítico, a las cuales se les aplicará el proceso seleccionado en el ensayo 2, para luego determinar la biodisponibilidad de minerales.

Factores en estudio: Líneas avanzadas y/o variedades de cebada procesada y no procesada.

CUADRO 5. Descripción de los factores para determinar el efecto del proceso sobre la biodisponibilidad de minerales, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Factor | Descripción | Niveles |
|--------|---------------------------------|--|
| a | Condiciones del grano | a ₁ Procesado a ₂ No procesado |
| b | Líneas avanzadas y/o variedades | b ₁ línea y/o variedad 1 b ₂ línea y/o variedad 2 b ₃ línea y/o variedad 3 b ₄ línea y/o variedad 4 |

a. Unidad experimental

Estará constituida por 300 g de cebada procesada y no procesada.

b. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2x4 con tres repeticiones.

c. Tratamientos

Los tratamientos resultan de la combinación de los factores en estudio (Cuadro 6).

CUADRO 6. Tratamientos para determinar el efecto del proceso sobre la disponibilidad de minerales, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Tratamientos | |
|---------------------|----------|
| T1 | a_1b_1 |
| T2 | a_1b_2 |
| T3 | a_1b_3 |
| T4 | a_1b_4 |
| T5 | a_2b_1 |
| T6 | a_2b_2 |
| T7 | a_2b_3 |
| T8 | a_2b_4 |

d. Análisis estadístico

CUADRO 7. Esquema del análisis de varianza para determinar el efecto del proceso sobre la disponibilidad de minerales, en líneas avanzadas y/o materiales de cebada.

| Fuente de variación | Grados de Libertad |
|--|---------------------------|
| Total | 23 |
| Repeticiones | 2 |
| Factor a (Líneas avanzadas y/o variedades de cebada) | 1 |
| Factor b (Tipo de proceso) | 3 |
| Interacción axb | 3 |
| Error Experimental | 14 |

e. Análisis funcional

Para los factores e interacciones que presenten significación estadística, se aplicará la prueba de Tukey al 5 %.

f. Variables y métodos de evaluación

Se evaluará la biodisponibilidad de los minerales en los tratamientos especificados en el Cuadro 6, aplicando la metodología especificada en la parte experimental.

g. Manejo específico del experimento

De los materiales contemplados en el ensayo 1, se seleccionarán las líneas y/o variedades con mayor contenido de ácido fítico, a las cuales se les aplicará el proceso seleccionado en el ensayo 2, para luego determinar la biodisponibilidad de minerales, este resultado se comparará con el de la cebada a la que previamente se a realizado la determinación antes mencionadas, pero sin aplicar ningún proceso (cebada no procesada).

5. Ensayo 4: Determinación del contenido de lisina disponible y digestibilidad de la proteína, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada, procesada y no procesada.

De los materiales contemplados en el ensayo 1, se seleccionarán los que tengan mayor contenido de ácido fítico, a los cuales se les aplicará el proceso seleccionado en el ensayo 2, para luego determinar la biodisponibilidad de la lisina y digestibilidad de la proteína.

Factores en estudio

CUADRO 8. Factores en estudio para la determinación del efecto del proceso sobre la biodisponibilidad de la lisina y digestibilidad de la proteína, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Factor | Descripción | Niveles |
|---------------|---------------------------------|--|
| a | Condición del grano | a ₁ Procesado a ₂ No procesado |
| b | Líneas avanzadas y/o variedades | b ₁ línea y/o variedad 1 b ₂ línea y/o variedad 2 b ₃ línea y/o variedad 3 b ₄ línea y/o variedad 4 |

a. Unidad experimental

Estará constituida por 100 g de cebada procesada y no procesada.

b. Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2x4 con tres repeticiones.

c. Tratamientos

Los tratamientos resultan de la combinación de los factores en estudio (Cuadro 9).

CUADRO 9. Tratamientos para determinar el efecto del proceso sobre la disponibilidad de la lisina y digestibilidad de la proteína, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Tratamientos | |
|--------------|----------|
| T1 | a_1b_1 |
| T2 | a_1b_2 |
| T3 | a_1b_3 |
| T4 | a_1b_4 |
| T5 | a_2b_1 |
| T6 | a_2b_2 |
| T7 | a_2b_3 |
| T8 | a_2b_4 |

d. Análisis estadístico

CUADRO 10. Análisis de varianza para determinar el efecto del proceso sobre la disponibilidad de la lisina y digestibilidad de la proteína, en líneas avanzadas y/o variedades de cebada.

| Fuente de variación | Grados de Libertad |
|--|--------------------|
| Total | 23 |
| Repeticiones | 2 |
| Factor a (Líneas avanzadas y/o variedades de cebada) | 1 |
| Factor b (Tipo de proceso) | 3 |
| Interacción axb | 3 |
| Error Experimental | 14 |

e. Análisis funcional

Para los factores e interacciones significativos, se aplicará la prueba de Tukey al 5 %.

f. Variables y métodos de evaluación

Se evaluará la biodisponibilidad de la lisina y la digestibilidad de la proteína para los tratamientos especificados en el Cuadro 9, aplicando la metodología descrita en la parte experimental.

g. Manejo específico del experimento

De los materiales contemplados en el ensayo 1, se seleccionarán los que tengan mayor contenido de ácido fítico, a los cuales se les aplicará el proceso seleccionado en el ensayo 2, para luego determinar la biodisponibilidad de la lisina y digestibilidad de la proteína; este resultado se comparará con el de la cebada a la que previamente se a realizado las determinaciones antes mencionadas, pero sin aplicar ningún proceso (cebada no procesada