

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



**Optimización de parámetros para la obtención de quinua
germinada (*Chenopodium quinoa*) de tres variedades: Blanca,
Pasankalla y negra Collana**

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos

Autor:

Gilda Sapillado Condori

Asesor:

Ing. Ana Mónica Torres Jiménez

Juliaca, mayo de 2016

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo Ana Mónica Torres Jiménez, docente de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que la presente investigación titulada: “**OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS PARA LA OBTENCIÓN DE QUINUA GERMINADA (*CHENOPODIUM QUINOA*) DE TRES VARIETADES: BLANCA, PASANKALLA Y NEGRA COLLANA**” del (los) autor (autores) Gilda Sapillado Condori, tiene un índice de similitud de 17% verificable en el informe del programa Turnitin, y fue realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad u omisión de los documentos como de la información aportada, firmo la presente declaración en la ciudad de Juliaca, a los 09 días del mes de octubre del año 2023.



Ana Mónica Torres Jiménez

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



En Puno, Juliaca, Villa Chullunquiani, a Cuatro día, del mes de Mayo, del año 2016, siendo las 3:00 p.m, se reunieron en el Salón de Grados y Títulos de la Universidad Peruana Unión, Filial Juliaca, bajo la dirección del Señor Presidente del Jurado: Ing. Emiguel Marmón Gilda, y los demás miembros siguientes: Ing. Estany Guala, Ing. Rafael Vilca, Secretario, Ing. Lidia Rebeca Azaña, Ing. Carmen Rosa Areaza Huamaza, Mónica Torres Jiménez, vocales; y Ing. Ana llevar a cabo el acto público de la sustentación de tesis titulada: "Optimización de parámetros para la obtención de quinua germinada (Consección quinuales, tra. variedades Blanca, Panchala y negra Callao)". Presentada por el/los Bachiller/es: Gilda Sapillado Condori

conducente a la obtención del Título Profesional de Ingeniero de Alimentos. El señor Presidente inició el acto académico, invitando al/los candidato/s hacer uso del tiempo requerido para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente del Jurado invitó a los miembros del mismo a realizar las preguntas y cuestionamientos correspondientes, los cuales fueron absueltos por el (los) candidato(s). En seguida, el Jurado procedió a las deliberaciones respectivas, luego se registró en el acta el dictamen siguiente:

Bachiller: Gilda Sapillado Condori Aprobado por Unanimidad con el mérito académico adicional de distinción y Bachiller: _____, por _____ con el mérito académico adicional de _____

El Presidente del Jurado solicitó al/los candidato/s ponerse de pie. Luego el Secretario realizó la lectura del acta con el resultado final del acto académico, procediéndose inmediatamente a registrar las firmas respectivas.

[Firma]
Presidente
[Firma]
Secretario
[Firma]
Asesor
[Firma]
Vocal
[Firma]
Vocal
[Firma]
Vocal
[Firma]
Candidato
[Firma]
Candidato

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico al Altísimo, quién me guardó a cada paso y momento, dándome fuerzas y perseverancia frente a los problemas, enseñándome a encarar las adversidades con tesón, mostrándome así que sus caminos son más grandes que los míos.

A mis hermanas: Martha, Hilda y Lidia por su apoyo y compañía, y también a mi padre quién me apoyo económica y emocionalmente, brindándome la oportunidad de culminar mis estudios y alcanzar mis metas y objetivos. Si he conseguido algo en esta vida, todo se lo debo a ellos, mi familia.

AGRADECIMIENTO

Mis más sinceros agradecimientos a:

- A mí estimada orientadora, Ing. Ana Mónica Torres Jiménez, por su dedicación y paciencia al corregir este trabajo.
- A los docentes: Dr. Augusto Pumacahua Ramos, MgSc. Daniel Sumire Qquenta, Ing. Enrique Mamani Cuela, Ing. Guido Anglas Hurtado y la Ing. Nancy Curasi Rafael por su vehemente orientación y acertadas recomendaciones.
- A la MgSc. Giovanna Santana, quien mediante sus consejos me apoyo a la culminación de la parte final de esta tesis.
- A mi familia por su incesante apoyo y amor sobre todo en los momentos que supusieron un mayor esfuerzo de mi parte.
- A todos aquellos que de alguna u otra manera influyeron y ayudaron a que culminara e alcanzara los objetivos trazados.

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción	16
2. Marco teórico	18
2.1. Base Teórica	18
2.1.1. <i>Fase de latencia en semillas</i>	18
2.1.2. <i>Relaciones hídricas en plantas</i>	18
2.2.1. <i>Quinoa (Chenopodium quinoa)</i>	19
2.2.2. <i>Principales variedades de quinoa</i>	20
2.2.3. <i>Aplicaciones tecnológicas</i>	23
2.2.4. <i>Germinación</i>	24
2.2.5. <i>Fases de la germinación</i>	24
2.2.5.1. <i>Fase I: Absorción de agua.</i>	24
2.2.6. <i>Factores que afectan a la germinación</i>	29
2.2.6.1. <i>Factores internos</i>	29
2.2.6.2. <i>Factores externos</i>	31
a. <i>Humedad</i>	31
b. <i>Temperatura</i>	32
c. <i>Incidencia de luz</i>	33
d. <i>Gases presentes en el medio</i>	34
e. <i>Salinidad y estrés hídrico</i>	36
3. Materiales y métodos	40
3.1. Lugar de ejecución	40
3.3. Métodos de análisis.....	40
3.3.1. <i>Etapa pre-germinativa</i>	41
3.3.1.1. <i>Determinación de la cantidad de agua de remojo (Q_{agua})</i>	41
3.3.2. <i>Etapa de germinación</i>	43
3.3.2.1. <i>Aplicación de tratamientos pre-germinativos</i>	44
3.3.2.2. <i>Determinación de azúcares reductores (ARs)</i>	45
3.3.2.3. <i>Porcentaje de germinación</i>	46
3.3.2.4. <i>Índice y velocidad de germinación</i>	46
3.3.3. <i>Etapa pos-germinativa</i>	46
4. Resultados y discusiones	47

4.2.2.1. Optimización de los factores estudiados sobre el porcentaje de germinación	65
5. Conclusiones y recomendaciones	83
5.1. Conclusiones	83
5.2. Recomendaciones	83
6. Referencias	85
7. Anexos	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Variedades comerciales de quinua en el Perú	22
Tabla 2.	Valor nutricional de la quinua comparado con otros alimentos.....	23
Tabla 3.	Porcentaje de germinación e índice de velocidad de emergencia de semillas de pupunha (<i>Bactris gasipaes Kunth</i>)	30
Tabla 4.	Contenido de humedad de las semillas vs. Proceso	32
Tabla 5.	Temperaturas de germinación de diferentes semillas	33
Tabla 6.	Factores de conversión para la cantidad de agua (Q_{agua}) de la quinua.....	42
Tabla 7.	Niveles codificados de las variables usadas en la optimización	43
Tabla 8.	Matriz de diseño Box Behnken.....	44
Tabla 9.	Preparación de soluciones de glucosa de diferente concentración a partir de una solución stock 40mM.....	45
Tabla 10.	Determinación de la cantidad de agua (Q_{agua}) en tres variedades de quinua: Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana	47
Tabla 11.	Determinación del porcentaje de humedad adquirida y la velocidad de absorción de agua de quinua: Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana ...	56
Tabla 12.	Densidad óptica a 570 nm de cada dilución realizada para curva patrón.....	58
Tabla 13.	Análisis de Varianza para la variable respuesta: Azúcares Reductores (ARs).....	58
Tabla 14.	Diseño optimizado para Azúcares Reductores.....	62
Tabla 15.	Análisis de Varianza para la variable respuesta: Porcentaje de germinación (%)	63
Tabla 16.	Diseño optimizado para el Porcentaje de germinación.....	67
Tabla 17.	Análisis de Varianza para la variable respuesta: índice de germinación	68
Tabla 18.	Diseño optimizado para el Índice de germinación	73
Tabla 19.	Análisis de Varianza para la variable respuesta: velocidad de germinación...	74
Tabla 20.	Diseño optimizado para la velocidad de germinación.....	77
Tabla 21.	Resultados finales de optimización para las cuatro variables respuesta	78
Tabla 22.	Matriz de Diseño Box Behnken con cuatro variables respuesta.....	79
Tabla 23.	Análisis proximal de semillas de quinua de tres variedades: Blanca de Juli, Negra Collana y Pasankalla	81
Tabla 24.	Contenido de minerales: Hierro, Calcio y fosforo en semillas de quinua germinada	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Sección longitudinal media del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.).	20
Figura 2.	Variabilidad genética respecto al color del grano en quinua	21
Figura 3.	Proceso de germinación en cereales	24
Figura 4.	Etapas de la germinación que conducen a la emergencia de la radícula	25
Figura 5.	Cambios en el volumen de la semilla de <i>Pisum sativum</i> a medida que avanza el tiempo de imbibición	26
Figura 6.	Tasa de imbibición por semillas de diferentes cultivos sometido a diferentes tiempos	28
Figura 7.	Influencia de la inducción de la síntesis de giberelinas por parte del embrión	29
Figura 8.	Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de germinación en cedro María	31
Figura 9.	Índice de velocidad de germinación de semillas de <i>Eyrthroxyllum ligustrinum</i> DC, en diferentes temperaturas constantes	33
Figura 10.	Interacción entre los factores sustrato y condición lumínica sobre (a) la potencia germinativa y (b) el vigor de las semillas de diomate	34
Figura 11.	Monitoreo de cambios respiratorios durante la imbibición de <i>Pisum sativum</i> L., var <i>Baccara</i>	35
Figura 12.	Comportamiento del tamaño del coleóptilo de <i>Oryza sativa</i> frente a concentraciones de oxígeno	36
Figura 13.	Movilización de los recursos nutricionales en una semilla en germinación	38
Figura 14.	Esquema del ciclo del glioxilato y del ciclo de los ácidos tricarbóxicos	39
Figura 15.	Diagrama de flujo de parámetros para germinación de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>)	41
Figura 16.	Tasa de imbibición de quinua variedad Blanca de Juli	49
Figura 17.	Bondad de ajuste de los residuales al modelo por tiempo de inmersión en la variedad Blanca de Juli	50
Figura 18.	Tasa de imbibición de quinua variedad Pasankalla	51

Figura 19. Bondad de ajuste de los residuales al modelo por el tiempo de imbibición en la variedad Pasankalla	52
Figura 20. Tasa de imbibición de quinua variedad Negra Collana.....	53
Figura 21. Velocidad de absorción de agua en tres variedades de quinua	55
Figura 22. Curva Patrón de glucosa por el método DNS.....	57
Figura 23. Diagrama de Pareto estandarizada para ARs	59
Figura 24. Gráfico de efectos principales para el contenido de Azúcares reductores	60
Figura 25. Superficie de respuesta del contenido de Azúcares reductores	61
Figura 26. Diagrama de Pareto estandarizada para el porcentaje de germinación	64
Figura 27. Gráfico de efectos principales para el porcentaje de germinación	65
Figura 28. Superficie de respuesta del porcentaje de germinación	67
Figura 29. Diagrama de Pareto estandarizada para el índice de germinación	69
Figura 30. Gráfico de efectos principales para el índice de germinación	70
Figura 31. Superficie de respuesta para el índice de germinación	72
Figura 32. Diagrama de Pareto para la velocidad de germinación	74
Figura 33. Gráfico de efectos principales para la velocidad de germinación	75
Figura 34. Superficie de respuesta para la velocidad de germinación	77

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Preparacion de reactivos y soluciones especificos	93
Anexo 2. Determinación de humedad: método de la estufa de aire 15ª edición	94
Anexo 3. Determinacion de cenizas 15ª edición A.O.A.C. 1990	95
Anexo 4. Determinacion de proteinas: metodo Kjeldhal . 13th edition A.O.A.C. 1984...	96
Anexo 5. Determinacion de materia grasa 13ª edición A.O.A.C. 1984.....	98
Anexo 6. Determinacion de hierro en residuos calcinados.....	99
Anexo 7. Determinacion de calcio en residuos calcinados.....	100
Anexo 8. Determinacion de fosforo en residuos calcinados	101
Anexo 9. Tests de normalidad- Lilleford	102
Anexo 10. Fotos.....	103

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Capacidad germinativa

Un término general que puede referirse a la pureza, capacidad germinativa o vigor de un lote de semillas.

Cotiledón

Hojas modificadas del embrión o plántula, las cuales pueden contener las reservas de los alimentos almacenados de la semilla. Ellas están formadas en el primer nudo o en el extremo superior del hipocotilo.

Embrión

Planta rudimentaria contenida dentro de la semilla.

Endospermo

Tejido que almacena los nutrientes triploides y que cubre al embrión en semillas de angiospermas.

Escarificación

Rotura de la envoltura de la semilla, generalmente debido a raspaduras mecánicas o a breves tratamientos químicos en ácidos concentrados, para aumentar su permeabilidad al agua y a los gases o para reducir su resistencia mecánica.

Imbibición

Mecanismo de absorción inicial de agua por las semillas el ascenso del fluido por un sistema coloidal.

Inhibición

Una restricción o represión de una función de la semilla.

Latencia

Un estado fisiológico en el cual una semilla predispuesta a germinar y no lo hace, aun en presencia de condiciones ambientales favorables.

Madurez fisiológica

Un término general para la etapa en el ciclo de vida de una semilla cuando el desarrollo de completa y los componentes bioquímicos necesarios para que todos los procesos fisiológicos están activos o listos para ser activados.

Plúmula

Brote primario del embrión de una planta situado en el ápice del hipocotilo. Porción del eje de la plántula sobre los cotiledones que consiste de hojas y un epicotilo, que se alarga para formar el tallo primario.

Pre-tratamiento

Cualquier tipo de tratamiento aplicado a las semillas para romper la latencia y acelerar la germinación.

Radícula

Porción del axis de un embrión del cual se desarrolla la raíz primaria.

Semilla

Un ovulo maduro que contiene un embrión y tejido nutritivo y está envuelto en capas protectoras de tejido (testa).

Testa

La capa o tejido externo de una semilla, generalmente dura o gruesa.

Optimización de parámetros para la obtención de quinua germinada (*Chenopodium quinoa*) de tres variedades: Blanca, Pasankalla y negra Collana

RESUMEN

La presente investigación establece una metodología a seguir para la optimización de parámetros en germinación de quinua de tres variedades: Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana. Primero, se calculó la cantidad de agua (Q_{agua}) necesaria para la adaptación de las semillas. Obteniendo para la Blanca de Juli 6.83 ± 0.015 ml/ 3 g., Pasankalla 7.38 ± 0.035 ml/ 3 g. y Negra Collana 9.57 ± 0.005 ml/3 g. Segundo, se determinó el tiempo óptimo de remojo (T_{remojo}) y % humedad adquirida (Had), mediante el ajuste de un modelo lineal simple. Obteniendo para la Blanca de Juli 112 minutos, 119 minutos Pasankalla y 109 Negra Collana para que la variedad alcance el 45% de Had. Tercero, para la optimización del proceso de germinación se aplicó un diseño Box-Behnken con cuatro variables independientes ($k=4$): variedad (se usó la densidad para diferenciación de las tres variedades), tratamiento pre-germinativo, tiempo y temperatura. La variedad Blanca de Juli presentó los mejores parámetros de germinación, azúcares reductores (ARs) 18.7598 mg/ml, densidad de 0.4903, tratamiento de agua oxigenada ($\text{pH}=1.523$) como estimulante químico y un tiempo de 24.02 horas a 23.3401°C . El porcentaje de germinación se maximizó hasta 72.1572% con agua oxigenada, por 48 horas a 25.04°C . El mayor índice de germinación fue 30.232, con agua oxigenada por 48 horas a 25°C . La velocidad de germinación optimizada fue 0.5267 con agua oxigenada, 24 horas a 25°C . Finalmente, se realizó un análisis fisicoquímico: humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos, calcio, hierro y fósforo a las tres variedades en *pre* y *post* germinación en base seca. Se concluyó que la variedad blanca presenta mejores características de germinación que las variedades de colores y el hierro tuvo un incremento significativo de 9.5% en Blanca de Juli, 12.207% Negra Collana y 11.733% Pasankalla.

Palabras Clave: Germinación, optimización, Box-Behnken, quinua

Optimization of parameters for obtaining germinated quinoa (*Chenopodium quinoa*) of three varieties: Blanca, Pasankalla and negra Collana

ABSTRACT

This study develops a methodology for optimizing parameters for quinoa germination in three varieties: Blanca de Juli, Pasankalla, and Negra Collana. First, the amount of water and optimal soaking time required for adaptation to germinate the seeds were calculated. The Blanca de Juli variety yielded 6.83 ± 0.015 ml, Pasankalla 7.38 ± 0.035 ml, and Negra Collana 9.57 ± 0.005 ml. Second, the optimal soaking time was determined by adjusting a simple linear model and an equation that described the mathematical relationship between the time variable imbibition and the percentage moisture. The Box-Behnken design was used with four independent variables ($k = 4$): variety (detailed as density), pretreatment, time, and temperature. Blanca de Juli variety presented the best germination parameters with density 0.4903, hydrogen peroxide ($\text{pH} = 1523$), time of 24.02 hours and a temperature of 23.3401°C , and an optimized value of reductors sugars of 18.7598 mg/ml is obtained. When the H_2O_2 pretreatment is used in Blanca de Juli variety with 48 hours and 25.04°C , the percentage of germination is maximized to 72.1572%. When the variety Blanca de Juli, H_2O_2 , 48 hours, and a temperature of 25°C are used, the optimality index is 30,232. Finally, when the Blanca de Juli variety, H_2O_2 , is grown for 24 hours at 25°C , the germination rate is optimized to 0.5267. Finally, a physicochemical analysis of moisture, ash, protein, fat, carbohydrates, calcium, iron, and phosphorus in pre- and post-germinating seeds was performed, concluding that germination influences nutrient content significantly ($p \leq 0.05$).

Keywords: Germination, optimization, Box- Behnken, quinoa

1. Introducción

Los niveles de desnutrición crónica infantil (DCI) en el Perú se han reducido en un 19 % en los últimos 20 años, pero queda una brecha que superar para el 2016, la de disminuir el DCI a un 10%. (Ministerio de Desarrollo e inclusión Social [MIDIS] 2013). El tema de la desnutrición es un común denominador en varios países, por lo cual, se está incrementando el consumo de cultivos, como la cañihua, kiwicha, tarwi, soya y la quinua, todos estos con potencial de producir alimentos altamente nutritivos, sin embargo, la quinua se destaca por presentar un alto valor biológico y su adaptabilidad de ambiente. [FAO, 2011]

La quinua sigue siendo una excelente alternativa para elevar la seguridad alimentaria, específicamente en aquellas regiones donde el acceso a alimentos de fuentes de proteínas es limitado (FAO, 2011). Este pseudo-cereal andino posee un excelente perfil de Aminoácidos (Proteínas completas) que puede variar entre un 8 a 22% (Jancurová et al., 2009), un valor de PDCAAS (Escore químico de aminoácidos corregido por la digestibilidad proteica) de 1.07, un PER (eficiencia proteica) de 2.7 (Tapia, 2014) y 2.87 para el caso de quinua Real (Freire et al., 2008), además cuenta con minerales (Ca, Mg, Fe y Zn), vitaminas, polifenoles, fitoesteroles y flavonoides (Abugoch, 2009). La germinación de semillas de este pseudo-cereal andino, se propone como una tecnológica efectiva y barata para incrementar la calidad nutricional a través de modificaciones bioquímicas y estructurales propias de las plantas, todo relacionado en el incremento de aminoácidos esenciales y la digestibilidad (Díaz et al., 2007). Existen ya indicios de que la germinación de semillas de quinua genera cambios en la asimilación de estas, Chaparro et al. (2009) encontraron que la digestibilidad *in vitro* en la proteína de la quinua puede variar de 80.23% a 85.99%, además, Barrón et al. (2009) pone en manifiesto que el porcentaje de saponinas de germinados en comparación a semillas en estado seco, en Huazontle (*Chenopodium nuttalliae*) paso de 5280.57 mg/100 gr a una cantidad de 2.873.23 mg/100 gr peso seco. Estudios realizados por Chaparro et al. (2010) aseguran que, en granos germinados de quinua se incrementaron los porcentajes de calcio disponible, a partir del segundo día de germinación. La germinación generó un incremento porcentual, en el contenido de calcio de 24.75%. Por tal motivo, los germinados de quinua, bien pueden contribuir con una dieta rica en nutrimentos (vitaminas, minerales, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos y enzimas) (Barrón et al., 2009; Park y Morita, 2005). Finalmente, el objetivo de esta investigación es justificado en la masificación del consumo de este cultivo, beneficiándose además aquellas zonas que centralizan su economía en la producción de quinua.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo General

Optimizar parámetros para germinación de tres variedades de quinua: Blanca, Pasankalla y Negra Collana.

1.1.2. Objetivo específico

- Obtener la cantidad de agua (Q_{agua}) y tiempo de remojo (T_{remojo}) para cada variedad.
- Determinar parámetros óptimos para la germinación basados en la respuesta al contenido de azúcares reductores (mg/ml), porcentaje, índice y velocidad de germinación.
- Caracterizar la composición química de las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*) antes y después de la germinación

2. Marco teórico

2.1. Base Teórica

2.1.1. Fase de latencia en semillas

El estado de dormición, latencia o letargo es definido como la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases (CO_2 y O_2) que serían adecuados para la germinación. (Varela y Arana, 2011, p. 3). Durante la germinación de la semilla, el embrión secreta Giberelina (GA) a la capa de aleurona donde induce la expresión de genes que codifican para enzimas hidrolíticas. La expresión de estos genes es bloqueada por el ácido abscísico (ABA) durante el desarrollo de la semilla, el periodo de dormancia y bajo condiciones desfavorables para la germinación. (Mendoza, 2005)

Así, una cubierta seminal relativamente impermeable a la humedad impide la germinación durante las lluvias aisladas que se producen en medio de una larga estación seca, pero la permite durante una estación de lluvias sostenidas. En la zona templada fresca, el tipo de latencia embrionaria que puede eliminarse sólo mediante la exposición a temperaturas bajas facilita la germinación ulterior en primavera, pero la impide en otoño, cuando el germen resultante tendría pocas posibilidades de sobrevivir al invierno (Willan, 1991).

2.1.2. Relaciones hídricas en plantas

La difusión es el movimiento de moléculas a lo largo de un gradiente de concentración, debido a la agitación térmica aleatoria. Es el movimiento de moléculas de zonas de mayor concentración a zonas de menor concentración, hasta que se alcanza la condición de equilibrio, se puede definir también como el movimiento neto de moléculas de regiones de alta energía libre hacia regiones de energía libre baja (Hernández, 2007).

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Quinoa (*Chenopodium quinoa*)

La quinoa es un cultivo sobre todo utilizado por siglos por las poblaciones campesinas indígenas en Colombia, Ecuador Perú, Bolivia y Chile, por diferentes grupos nativos como los quechuas y Aymaras en Perú y Bolivia y por las poblaciones Mapuches en Chile. Es gracias a ellos y sus plantaciones que han conservado el material genético de este grano y otras especies, con las características propias de lo que se podría llamar un adecuado sistema de conservación in situ (Tapia, 2014). La estructura básica de la semillas de quinoa consta de tres componentes cada uno tiene un origen y funciones específicas (Figura 1) (Sánchez, 2013).

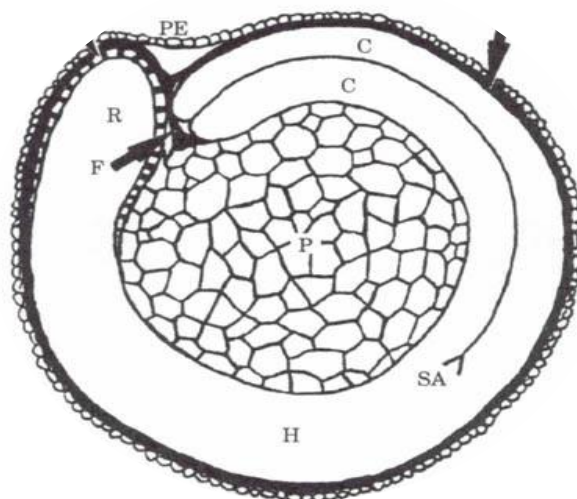
2.2.1.1. Tegumento o cáscara. Es la estructura externa que delimita la semilla y se encarga de mantener unidas las partes internas de la misma, protegiéndola contra choques y fricciones, mantiene una barrera al ingreso de microorganismos, regula la rehidratación, regula la velocidad de intercambio de oxígeno y gas carbónico con el medio ambiente (Tapia et al., 1979).

2.2.1.2. Embrión. Denominado también eje embrionario, es una planta en miniatura y parte vital de la semilla, porque cumple la función reproductiva, siendo capaz de originar divisiones celulares e iniciar el crecimiento en dos direcciones, para las raíces y para el tallo (Sánchez, 2013).

2.2.1.3. Perisperma o tejido de reserva. Es la parte más voluminosa de la semilla, constituye la reserva principal de las sustancias nutritivas; cumple la función de almacenamiento y abastecimiento de compuestos orgánicos en formas simples, para ser usados por el eje embrionario, para la elaboración de nuevas paredes celulares, citoplasma y núcleos, desde el inicio de la germinación hasta que la planta sea capaz de realizar los procesos de fotosíntesis y de absorber los nutrientes del suelo por las raíces (Prego et al., 1998).

Figura 1

Sección longitudinal media del grano de quinua (Chenopodium quinoa Willd.).



Fuente: Prego et al. (1998)

2.2.2. Principales variedades de quinua

En el país se posee variedades comerciales de quinua (Figura 2), y estos se encuentran distribuidos alrededor del país, ya que cada variedad presenta requerimientos muy diferenciados para su adecuada producción (Tabla 1).

Se pueden mencionar algunos tipos mayores: Quinuas del valle seco (estas quinuas son de gran tamaño y tienen un largo periodo de crecimiento) y de valles húmedos (Cajamarca el Perú y valles de Ecuador y Colombia) estas presentan diferencias entre aquellas que se desarrollan en valles interandinos con riego y aquellas que se cultivan en condiciones más agrestes; Quinuas del Altiplano (Blancas alrededor del Lago Titicaca y las de colores en la zona Suni)(Tapia et al., 1979); Quinuas de terrenos salinos o salares (poseen semillas amargas con un alto contenido proteico); Quinuas del nivel del mar (son semillas amargas y de color amarillo. Estas quinuas están más adaptadas a climas húmedos y con temperaturas más regulares, sobre todo en latitudes más allá de los 30° LS. Las variedades Baer, Litu, y Pichaman pertenecen a este grupo.)

Figura 2

Variabilidad genética respecto al color del grano en quinua



Fuente: Canahua y Mujica. (2014)

Por último, pero no menos importante, el ecotipo Quinuas de yungas se encuentra en los valles intermedios de Bolivia. Las plantas de este grupo tienen un tono verde oscuro y cuando se desarrollan, se vuelven naranjas. También tienen semillas pequeñas blancas o amarillas. Gracias a su adaptación a climas subtropicales, pueden adaptarse a niveles más altos de precipitación y calor.

Algunos ecotipos pueden tolerar hasta $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. La quinua crece desde el nivel del mar hasta los 4.000 metros sobre el nivel del mar. El primero tiene un período vegetativo corto con rendimientos altos (4.000 kg/ha), mientras que el segundo tiene un período vegetativo largo. Para las especies como la Blanca de Junín, la altitud ideal es de 2.800 a 3.500 metros sobre el nivel del mar (Agrobanco, 2012).

En la Tabla 1 se observa las principales variedades cultivadas en nuestro en el Perú, además se muestra el valor nutricional para variedad, como el rendimiento promedio. La importancia de la quinua reside en la alta calidad como alimento, la utilización completa de la planta y su amplia adaptación a condiciones agroecológicas.

Tabla 1*Variedades comerciales de quinua en el Perú*

Variedad	Rendimiento promedio (T/Ha)	Características del grano			Características bromatológicas						
		Color del epispermo	Color del perisperma	Diámetro del grano (mm)	Humedad (%)	Proteínas (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	ELN (%) ^a	Saponina (%)
Inia 431 - Altiplano	3.00	Crema	Blanco	2.2	8.44	16.19	1.84	2	5.2	66.33	0.03
Inia 427 - Amarilla Sacaca	3.50	Amarillo	Blanco	2.1	9.52	14.58	2.56	2	8.65	68.4	7.00
Inia 420 - Negra Collana	ND	Negro brillante	Blanco	1.6	9.88	17.62	2.1	2.13	5.4	62.33	0.00
Inia 415 –Pasankalla	3.54	Vino oscuro	Blanco	2.1	9.62	17.83	3	2.83	6.29	60.43	0.00
Illpa Inia	3.00	Blanco	Blanco	2.2	8.42	16.14	1.66	1.99	4.88	66.91	0.02
Amarilla Marangani	3.50	Blanco	Blanco	2.00	8.72	13.85	2.56	2	9.78	68.4	7.00
Blanca de Juli	1.50 - 2.00	Blanco	Blanco	1.6	8.88	16.15	2.1	2.13	5.94	64.8	0.04
Kancolla	1.50 - 2.00	Blanco	Blanco	1.8	8.12	16.11	2.09	2.04	5.84	71.64	0.35
Blanca de Junín	2.5	Blanco	Blanco	2.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.00
Hualhuas	3.2	Blanco	Blanco	2.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.00
Quillahuaman	3.5	Blanco	Blanco	2	9.52	13.58	2.56	2	6.45	68.4	3.00

Nota. ND: No determinado. ^a ELN: Extracto libre de nitrógeno. Fuente: Apaza et al. (2013)

Los granos de quinua están considerados como el alimento más completo para la nutrición humana basada en proteínas de la mejor calidad en el reino vegetal (Tabla 2), ácidos grasos como omega 3, 6,9, en forma equilibrada, vitaminas y minerales como el calcio y el hierro (Mujica y Jacobsen, 2006). Gracias al valor nutritivo de la calidad de la proteína (índice PER) y sabor agradable es por lo que se está difundiendo su consumo a nivel de todo el mundo (Tapia, 2014).

Tabla 2
Valor nutricional de la quinua comparado con otros alimentos

Especie	Porcentaje de proteínas	Valor PER ^a
Trigo	10 a 12	1.6
Avena	8 a 16	1.9
Sorgo	9 a 13	1.8
Quinua	10 a 16	2.7
Caseína	-	2.5

Nota. ^aPER: Coeficiente de eficacia proteica. Fuente: Adaptación de Tapia (2014).

2.2.3. Aplicaciones tecnológicas

La quinua para su aplicación tecnológica, debe de pasar por un proceso llamado de saponificación para quitar las saponinas que se hallan antes del consumo o aplicación en productos ya sea yogures, fideos, quesos, papilla, galletas, entre otros. Por su valor nutricional las empresas están tomando mayor importancia de este grano (Boletín del programa de Investigación estratégica en Bolivia [PIEB], 2010, p. 4).

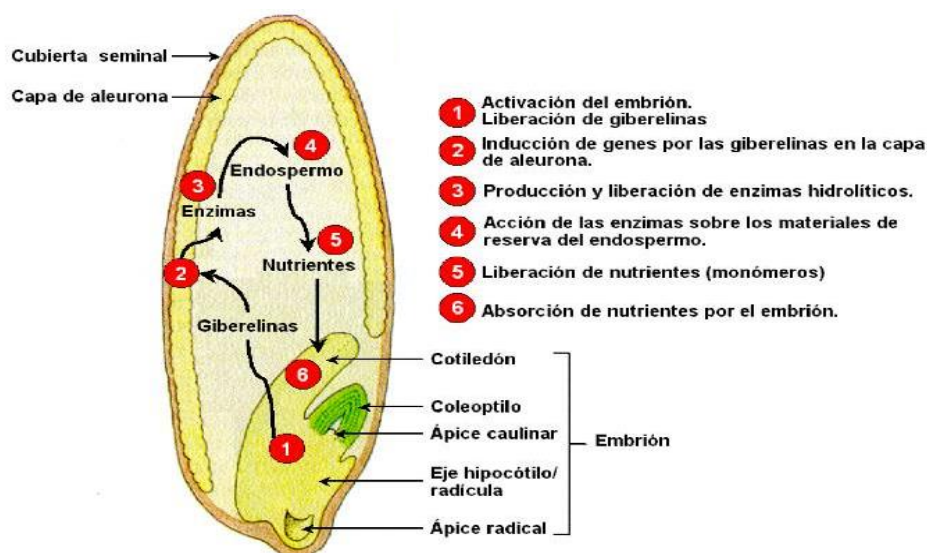
Además la quinua generalmente se comercializa pulida, manual o tostada al igual que se procesan varios elaborados semi-industrializados y productos finales a base del grano tales como diferentes tipos de harina, que se utiliza para preparar pan y diversos artículos de pastelería (galletas), la quinua procesada de diferentes maneras a nivel de consumidor final, se utiliza para preparar sopas, coladas, alimento para bebés, el insuflado y hojuelas como ingredientes para la producción de mueslis, granola o chocolates, leche, fideos, además el grano se fermenta para la elaboración de cerveza. La quinua por poseer una proteína que se asemeja a la caseína de la leche y almidón puede producir un sustituto a la crema y grasa, por tal motivo la industria ha lanzado al mercado un sustituto a la crema de carbohidratos a base de almidón de quinua. Por tener bajo contenido de gluten, con la harina de quinua se pueden preparar alimentos dietéticos altamente propicios para personas con problemas de sobrepeso o enfermos convalecientes (Figuroa, 2006).

2.2.4. Germinación

Se llama germinación al conjunto de procesos que se producen en la semilla desde que el embrión comienza a crecer hasta que se ha formado una pequeña planta que puede vivir por sí misma (Figura 3), independiente del alimento almacenado en la semilla (De La Cuadra, 1993). Este proceso no es tan sencillo, ya que necesita de medios muy específicos, es necesario por tanto que las semillas sean seleccionadas, estén frescas e hidratadas, a las cuales se les hace un seguimiento diario de las condiciones de humedad, luminosidad y temperatura, óptimas para su desarrollo y obtener de esta manera un producto con buen valor nutricional y apto para el consumo humano (Chaparro et al., 2009).

Figura 3

Proceso de germinación en cereales



Fuente: Universidad Politécnica de Valencia (UPV) (2010)

2.2.5. Fases de la germinación

El proceso mismo de la germinación se da en tres fases muy bien distinguidas (Figura 4), en las cuales se retoma la actividad biológica por parte de la semilla (Díaz y Camacho, 2010). La duración de cada fase va depender de las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal, toma de oxígeno, etc.) (UPV, 2010).

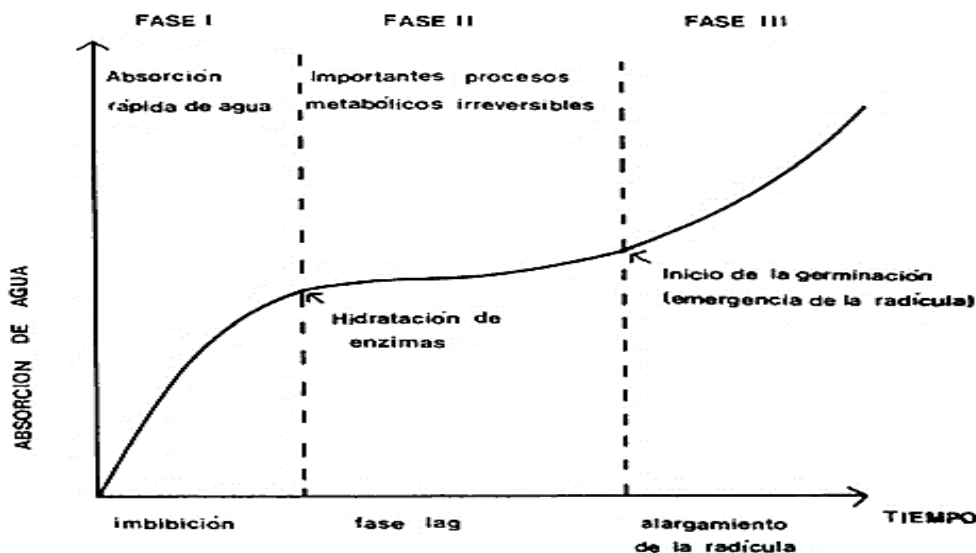
2.2.5.1. Fase I: Absorción de agua. Las moléculas de agua se adhieren debido a la atracción de los dipolos, como resultado de esto se pueden adherir a superficies cargadas

positiva o negativamente. La mayoría de las sustancias orgánicas como la celulosa tienden a desarrollar cargas cuando están hidratadas y de este modo atraen las moléculas de agua. La adhesión de las moléculas de agua es responsable de la imbibición o hidratación. Las semillas hidratadas pueden aumentar varias veces su volumen, gracias a la imbibición (Hernández, 2007).

Es el periodo durante el cual la semilla embebe agua, provocando el hinchamiento de la misma y el aumento de su peso fresco (Figura 4 y Figura 5). Esta rápida absorción de agua va acompañada de un aumento proporcional de la respiración (Goyoaga, 2005). Este evento es independiente de la viabilidad de la semilla, y la emergencia es el proceso por el cual el eje embrionario en especies dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas crece, se extiende y atraviesa las estructuras que lo rodean (Azcón y Talón, 2003).

Figura 4

Etapas de la germinación que conducen a la emergencia de la radícula



Fuente: Instituto Latinoamericano De Comunicación Educativa [ILCE] (2011)

La cohesión, adhesión y la tensión superficial dan como resultado el fenómeno de capilaridad, que consiste en el movimiento ascendente de agua en tubos de vidrio capilares. Los elementos conductores del xilema forman capilares finos, que bajo ciertas condiciones pueden mover agua en forma ascendente en un trozo de madera seca. Sin embargo, el agua en elementos del xilema funcionales forma una columna continua desde la raíz a la hoja. El movimiento de agua en el xilema difiere del movimiento de agua en tubos capilares. Las paredes celulares de las plantas retienen aguas con una tensión de 1,5 a 15 MPa (15 a 150 atm), lo que depende de la densidad de las fibrillas de celulosa (Hernández, 2007). La imbibición se ve regulada por varios factores que inciden en la respuesta a la germinación de las semillas:

a. Permeabilidad de la cubierta seminal.

El caso más evidente es el de semillas cuyas cubiertas son totalmente impermeables al agua, semillas duras de leguminosas, de algodón, etc. Sin embargo, también se dan ejemplos en que la penetración de agua es restringida y no impedida (UPV, 2010).

b. Concentración de sales en el agua.

En general, la imbibición es más rápida cuando la semilla está en contacto con agua pura que cuando el agua contiene solutos. El principio que opera es el de presión de difusión del agua. De aquí que las semillas absorben agua más lentamente en suelos secos o salinos, no solo porque hay menos agua, sino que también es causa de una menor presión de difusión del agua (Santana, 2015).

Figura 5

Cambios en el volumen de la semilla de Pisum sativum a medida que avanza el tiempo de imbibición



Fuente: Rolletschek et al. (2009)

c. Temperatura.

Cuando se calienta el agua que está en contacto con la semilla, parte de la energía suministrada se invierte en aumentar la difusión de agua, por lo tanto, aumenta la tasa de absorción de agua, dentro de ciertos límites. En algunos casos se ha demostrado que el incremento de 10°C en la temperatura duplica la tasa de absorción al inicio del proceso de imbibición (Marasssi, 2013).

d. Presión hidrostática.

Conforme el agua penetra en las semillas, ésta provoca un aumento de volumen (Figura 5) y presión en las membranas celulares. Igualmente, las membranas celulares oponen resistencia de igual magnitud, la que resulta en un aumento de la presión de difusión del

agua interna, aumentando su difusión hacia afuera y por lo tanto disminuyendo la tasa de absorción de la semilla (Rolletschek et al., 2009).

e. Área de semilla en contacto con agua.

Considerando otros factores constantes, la tasa de absorción de agua es proporcional a la magnitud del área de las semillas en contacto con el agua. En algunas clases de semilla ciertas regiones son más permeables que otras (Marasssi, 2013).

f. Fuerzas intermoleculares.

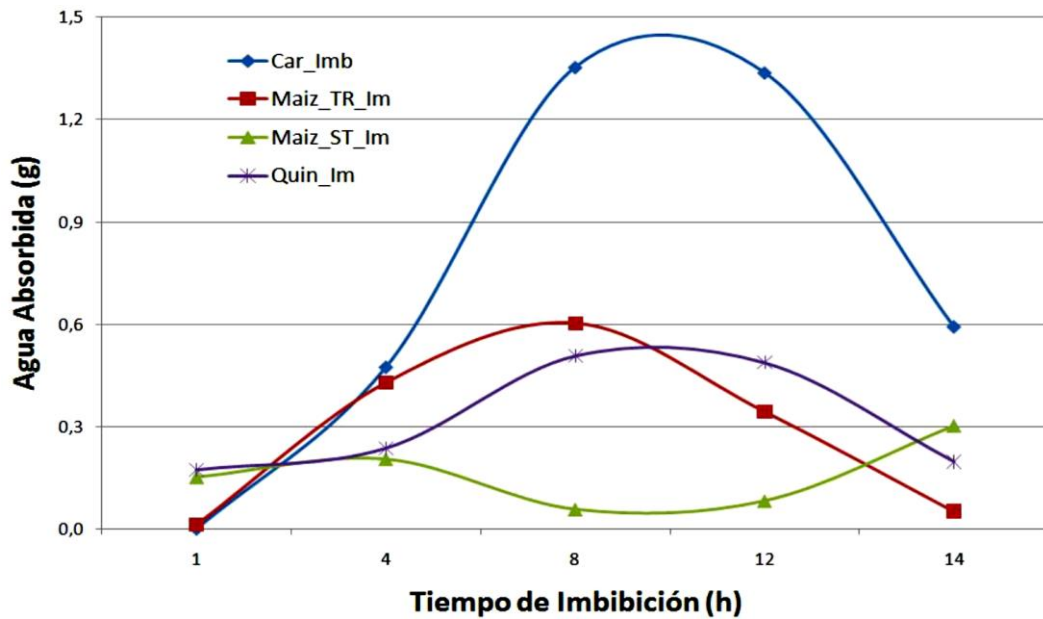
Son en general fuerzas de naturaleza eléctrica. Cualquier aumento en estas fuerzas disminuye la presión de difusión del agua y por tanto la tasa de absorción de las semillas. El efecto de estas fuerzas es más evidente en el suelo. Suelos de bajo contenido de agua sujetan tenazmente la humedad mediante fuerzas intermoleculares (Santana, 2015).

g. Absorción diferencial por órganos de la semilla.

Si bien las semillas están compuestas de diversos órganos: Cubierta seminal (testa, pericarpio, etc.), tejidos nutritivos de reserva (cotiledones, endospermo, perisperma, etc.) y eje embrionario (compuesto de radícula, plúmula y estructuras asociadas). Estos componentes absorben agua a diferentes velocidades y magnitudes. Se ha hallado que en semillas de algodón, maíz y frijol la máxima hidratación ocurre en las primeras 24 horas de imbibición (Figura 6), y que: (a) la cubierta seminal funciona como órgano de transporte de agua, con su curva característica de absorción; (b) el endospermo y los cotiledones absorben agua lentamente; actúan como reserva rica de agua y no como estructuras activas de absorción; (c) el eje embrionario absorbe agua rápida y continuamente (Méndez et al., 2008).

Figura 6

Tasa de imbibición por semillas de diferentes cultivos sometido a diferentes tiempos



◆ Car_Imb	$Y = -0,0144 - 0,03315 X + 0,052228 X^2 - 0,00334 X^3$	$R^2 = 100,0\%$
■ Maiz_TR_Im	$Y = -0,1791 + 0,20597 X - 0,013534 X^2$	$R^2 = 90,9\%$
▲ Maiz_ST_Im	$Y = 0,0647 + 0,10912 X - 0,023320 X^2 + 0,001196 X^3$	$R^2 = 99,6\%$
* Quin_Im	$Y = 0,2236 - 0,07495 X + 0,02524 X^2 - 0,001430 X^3$	$R^2 = 72,8\%$

Fuente: Méndez et al. (2008).

2.2.5.2. Fase 2: Actividad Enzimática. Esta fase se caracteriza por una disminución en la tasa de imbibición de la primera fase y una actividad respiratoria más reducida. Durante esta fase ocurre la síntesis, a partir de las reservas disponibles, de nuevas estructuras y compuestos necesarios para las fases siguientes del desarrollo. Además, esta etapa es principalmente anabólica y por lo tanto endergónica, consumiendo la energía disponible (Herrera et al., 2006).

Las giberelinas (GAs) inducen la síntesis de enzimas hidrolíticas (alfa amilasas, beta glucanasas, proteasas, etc.). Dentro de sus estudios, el fisiólogo J.E. Varner demostró que, al usar aminoácidos radioactivos e inhibidores de la síntesis de la RNA, que las GAs liberan un operón antes reprimido que se activa y la enzima α -amilasa se sintetiza. Esta enzima forma parte activa en la degradación del almidón, presente en semillas en estado de dormición o latencia, durante la germinación (Bidwell, 1993).

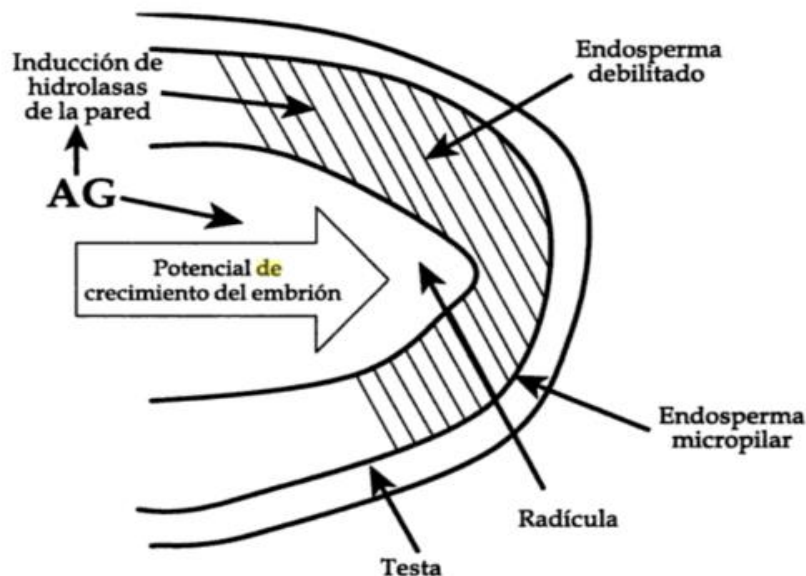
La gran mayoría de estas enzimas se sintetizan en la capa de aleurona y pasan a través de las paredes celulares de la misma, al endospermo, actuando sobre el constituyente de este. Para aumentar la síntesis de enzimas en la aleurona y su difusión al endospermo, se añade ácido Giberélico, en cantidades no mayor a 0.1 a 0.2 mg/Kg. (Primo, 1998, p. 127).

2.2.5.3. Fase 3: Engrandecimiento y divisiones celulares. Se sabe también que, cuando una semilla germina, la primera estructura que emerge, de la mayoría de las especies, después de la rehidratación de los tejidos es la radícula (Goyoaga 2005).

Durante esta fase, la expansión de las células del embrión requiere de auxinas. El suministro de las formas activas de esta hormona proviene de conjugados del AIA (Ácido Indol Acético) almacenados en las semillas seca, los cuales son hidrolizados por amidohidrolasas cuya actividad está regulada por las GAs (Figura 7). Una vez que el embrión ha iniciado su crecimiento, este realiza la síntesis de nuevo de AIA en el ápice (Herrera et al., 2006).

Figura 7

Influencia de la inducción de la síntesis de giberelinas por parte del embrión



Fuente: Herrera et al. (2006)

2.2.6. Factores que afectan a la germinación

2.2.6.1. Factores internos. Son todos aquellos factores que están estrictamente relacionados con la materia prima a germinar (semillas) y se explica cómo estas pueden influir directa o indirectamente en el poder germinativo.

a. Tamaño y color de la semilla

La variedad de tamaños y formas de las semillas varía grandemente. El tamaño de la semilla es uno de los factores que pueden influenciar la germinación y el vigor de las plántulas. Siendo las semillas de tamaño más grande, o las que tienen mayor densidad, son las que se nutrieron mejor durante su desenvolvimiento y por ende poseen embriones bien constituidos (reservas más grandes y vigorosas) (Carvalho y Nakagawa, 2000)

El color también es otro factor que puede influenciar en la capacidad germinativa, por ejemplo, en *Atriplex Inflata*, donde las semillas claras no requieren tratamientos pre germinativos, a diferencia de las oscuras (Tenorio et al., 2008). En la Tabla 3, se presenta el efecto del tamaño en la germinación de las semillas de pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*). De donde se concluye que no existe una diferencia significativa entre el medio y el mayor tamaño de las semillas para la pupunha, sin embargo, existe significancia entre el menor y mayor tamaño, esto puede estar relacionado con la cantidad de reservas, siendo que en semillas más grandes ocurre la síntesis rápida de compuestos secundarios importantes para la germinación, mayor producción de tejido fotosintético requerido en el crecimiento de las plántulas y mayor capacidad de sobrevivencia en condiciones desfavorables (Da Silva et al., 2002).

Tabla 3

Porcentaje de germinación e índice de velocidad de emergencia de semillas de pupunha (Bactris gasipaes Kunth)

Tamaño de la semilla	Porcentaje de germinación	Índice de velocidad de emergencia
Grande (>29 mm)	46 a	0.070 a
Media (22-29 mm)	43 a	0.065 a
Pequeña (<22 mm)	25 b	0.039 b

Nota. Valores dados a los 85 días después de la siembra. * Promedios seguidos por la misma letra, dentro de cada columna, son iguales, según la prueba de Tukey a una $p < 0.05$ DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Fuente: Da Silva et al. (2002).

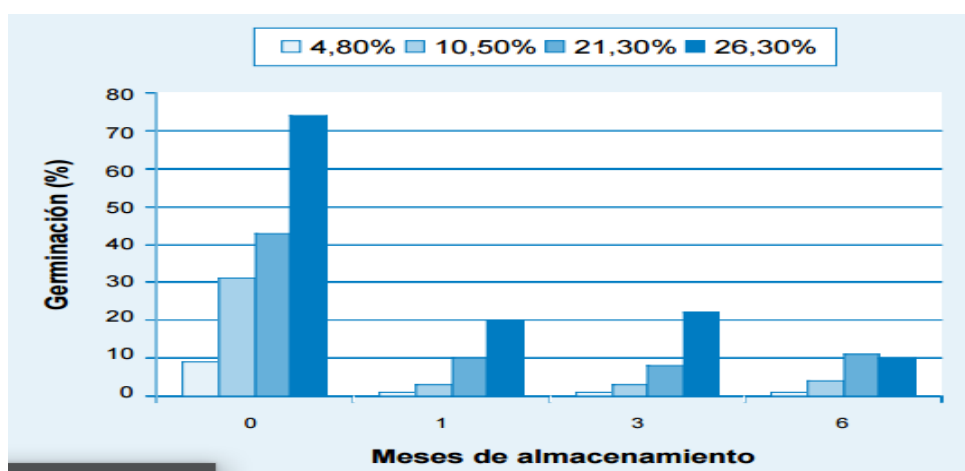
b. Madurez de la semilla

Aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar por que necesitan experimentar aun una serie de trasformaciones fisiológicas. Lo normal es que requieran la perdida de sustancias inhibitoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras. En general, necesitan reajustes en el equilibrio hormonal de la semilla o sensibilidad de sus tejidos (UPV, 2003).

La madurez de las semillas también es importante al momento de germinar una semilla. Algunas semillas ortodoxas pueden permanecer por mucho tiempo, inclusive centenarios, almacenadas sin perder su capacidad germinativa. Sin embargo, semillas recalcitrantes son susceptibles al paso del tiempo, por lo cual pueden entrar en periodos de latencia a las pocas horas. El porcentaje de germinación se ve afectado de manera directa por el tiempo de almacenamiento de las semillas en el cedro María, siendo los primeros periodos donde se presentan altos niveles de germinación (Figura 8) seguidos de descensos significativos (Herrera et al., 2000).

Figura 8

Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de germinación en cedro María



Fuente: Herrera et al. (2000).

2.2.6.2. Factores externos. A continuación, se describen algunos factores ambientales que afectan directamente en el poder germinativo del material biológico en estudio. Por lo tanto, es aconsejable que estas condiciones sean monitoreadas en laboratorio, aunque en la mayoría de los casos se opta por la germinación en un vivero. Siendo los factores más destacables: el porcentaje de humedad, la temperatura, la luminosidad y presencia de gases en el medio.

a. Humedad

La humedad es otro factor que posee interacción en la capacidad germinativa de las semillas, así mismo en su posterior almacenamiento y conservación (Carvalho y Nakagawa, 2000). Cada tipo de semilla requiere de niveles de humedad diferenciados (Tabla 4) todo dependiente del tipo de germinación y porcentajes de esta a los cuales se quiera llegar (Willan 1991).

Tabla 4*Contenido de humedad de las semillas vs. Proceso*

Contenido de humedad	Proceso
Más de 45-60%	Empieza germinación
Más de 18-20 %	La semilla puede calentarse
Más de 12-14%	Posible desarrollo de hongos
Mas 8-9 %	Importante reducción de la actividad de insectos

Fuente: Willan (1991)

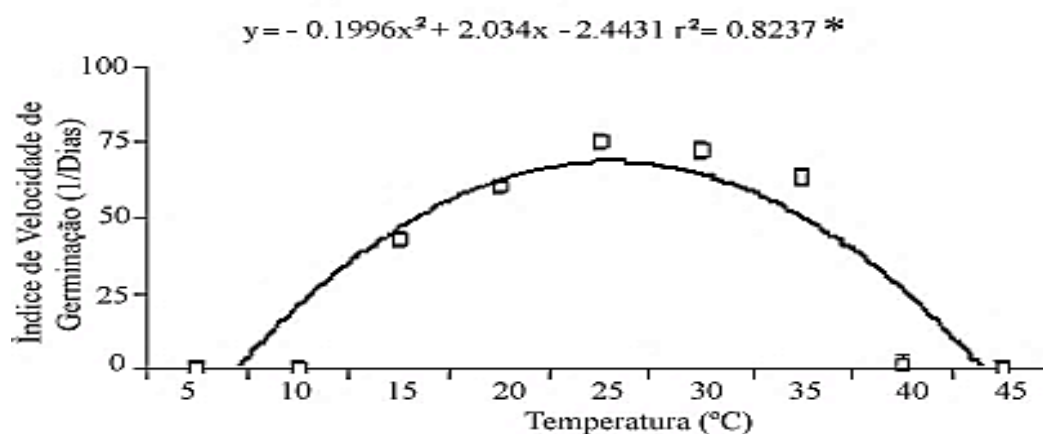
b. Temperatura

La temperatura es muchas veces el principal factor que controla la germinación (Longo et al., 1998). Es por tal motivo que es de suma importancia evaluar la temperatura adecuada para cada tipo de semilla. La temperatura actúa sobre las enzimas que intervienen en el proceso de germinación, afectando tanto la tasa como el porcentaje final de germinación (Faccini y Puricelli 2006).

Marques et al. (2008) analizaron la germinación y almacenamiento de semillas de COCA (*Erythroxylum ligustrinum* DC. - *Erythroxylaceae*) donde hallaron que el índice de velocidad de germinación para semillas de coca, hubo un aumento directamente proporcional al incremento de temperatura (Figura 9), siendo, sus valores mayores entre 25 y 30°C y los valores menores entre 15, 20 y 40°C.

Figura 9

Índice de velocidad de germinación de semillas de Eyrthroxyllum ligustrinum DC, en diferentes temperaturas constantes



Fuente: Márquez et al. (2008).

El factor de temperatura no siempre será constante, algunas tipas de semillas requerirán de intervalos de temperaturas determinadas, siempre y cuando estas estén por debajo de valores apropiados para la especie y variedad (Tabla 5) (ILCE, 2011).

Tabla 5
Temperaturas de germinación de diferentes semillas

Especie	Temperatura °C		
	Mínima	Óptima	Máxima
<i>Zea Mays</i> (Maíz)	8-10	32-35	40-44
<i>Triticum Sativum</i> (Trigo)	3-5	15-31	30-43
<i>Avena Sativa</i> (Avena)	3-5	25-31	30-40

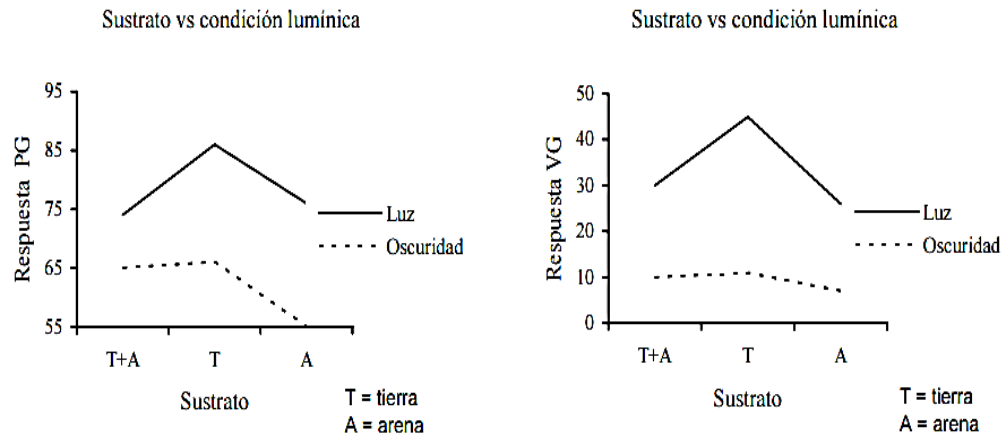
Fuente: Instituto Latinoamericano de Comunicación Educativa [ILCE] (2011)

c. Incidencia de luz

Gómez (2004) realizó pruebas en diomate (*Astronium graveolens Jacq.*) para estimar la capacidad germinativa y el vigor de las semillas frente al sustrato y la presencia de luz, así mismo encontró que, los mejores resultados se lograron con semillas sembradas en tierra sola y a la libre exposición, con 31% más de germinación, y los más bajos se obtuvieron en semillas sembradas en arena dejadas en oscuridad, aun cuando la germinación se inició 7 días antes y se completó igualmente más rápido. Con esto se aclara que, las indistintas variables germinativas se optimizan en presencia de luz.

Figura 10

Interacción entre los factores sustrato y condición lumínica sobre (a) la potencia germinativa y (b) el vigor de las semillas de diomate.



Fuente: Gómez (2004).

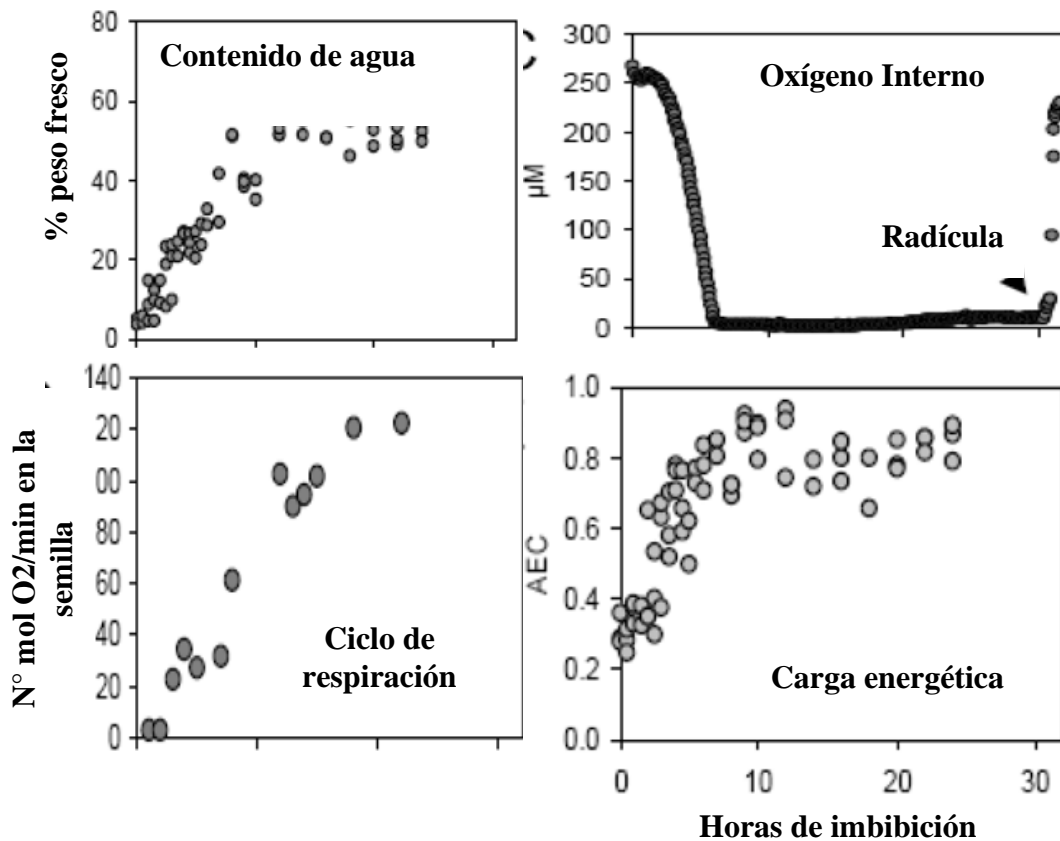
Las plantas son dotadas con sistemas de fitocromos los cuales son usados por las especies pioneras que detectan la presencia de luz y son responsables por los procesos de inducción de la germinación de semillas. Estos procesos son mediados por la detección de proporciones entre luz roja/rojo distante (R/Rf) por el fitocromo B, que es la forma de fitocromo pre-existente en semillas. Todas semillas tienen fitocromos y la sensibilidad se debe a forma de fitocromo presente. Cuando las semillas presentan fitocromo A, la germinación es posible bajo ambas condiciones: luz y oscuridad, y cuando las semillas presentan fitocromo B, la germinación ocurre solamente en la presencia de luz (Bidwell, 1993).

d. Gases presentes en el medio

El proceso de germinación comienza con la absorción de agua (imbibición) y con el restablecimiento parcial de la respiración mitocondrial. Esto implica grandes cambios a nivel genético, aumento en la transcripción y la actividad enzimática de las proteínas asociadas con el ciclo TCA y la disposición de la energía mitocondrial. (Rolletschek et al., 2009). En estudios realizados por Rolletschek et al. (2009) con guisantes, donde se monitoreo la cantidad de oxígeno interno, se presentó que los niveles de oxígeno estuvieron en equilibrio con la atmosfera pre-imbibición (250), sin embargo, a las 7 horas se muestran descensos rápidos hasta alcanzar un estancamiento por anoxia (Figura 11).

Figura 11

Monitoreo de cambios respiratorios durante la imbibición de *Pisum sativum* L., var *Baccara*



Fuente: Rolletschek et al. (2009).

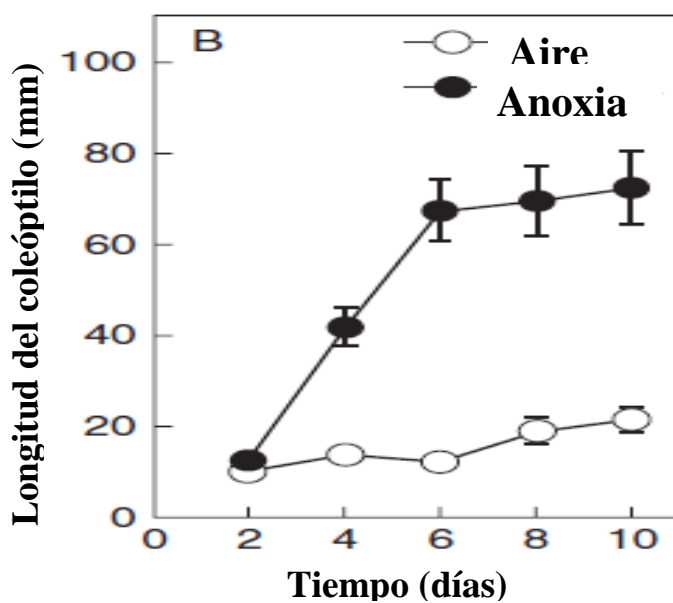
La germinación es un proceso que requiere un consumo considerable de energía. En las células vivas los principales procesos generadores de energía son la respiración y la fermentación. Ambos procesos implican un intercambio de gases CO_2 y O_2 entre las células y el ambiente, la germinación estará, por lo tanto, afectada por la composición de la atmósfera circundante. La mayoría de las semillas germinan sin problemas en atmósferas con 21% de O_2 y 0,03% de CO_2 . Sin embargo, existen algunas semillas que aumentan su porcentaje de germinación al disminuir el contenido de O_2 por debajo del 20% (Marasssi, 2013).

Por otra parte, se presentan especies vegetales que pueden germinar aun en condiciones de anoxia o con bajas concentraciones de este gas. Una de las especies más estudiadas es *Oryza sativa* (Figura 12), porque es un claro ejemplo de las especies que pueden soportar la escasez o ausencia de oxígeno que se da en los terrenos encharcados o sumergidos donde se suelen cultivar. Siendo las semillas con altos

contenidos de carbohidratos, las que mejor se adaptan (poseen un metabolismo de alta energía), frente a aquellas semillas que poseen lípidos en mayor cantidad. (García et al., 2012).

Figura 12

Comportamiento del tamaño del coleóptilo de Oryza sativa frente a concentraciones de oxígeno



Fuente: García et al. (2012).

e. Salinidad y estrés hídrico

La salinidad generalmente reduce la tasa de crecimiento, número de plantas y hasta puede aumentar la esterilidad. Así mismo la alta concentración de sales en el agua podría estar relacionada con el retraso de la germinación, aunque todo depende la variedad y tipo de semillas que se estén manejando (Santana, 2015).

2.2.7. Cambios fisiológicos y bioquímicos durante la germinación

2.2.7.1. Síntesis de carbohidratos. Durante la germinación de las semillas las amilasas desdoblan al almidón en azúcares simples, por lo que la cantidad de estos aumenta. Luego disminuye al ser consumidos por las partes vivas del grano, siendo estos cambios dependientes del proceso de germinación. (Álvarez, 2012).

La degradación de almidón por la amilasa parece ser el sistema más comúnmente usado por las semillas para movilizar sus reservas; las hojas y las estructuras almacenadoras de almidón. La entrada de sacarosa en el metabolismo respiratorio se produce probablemente sobre todo por medio de la enzima hidrolíticas invertasa que está casi universalmente

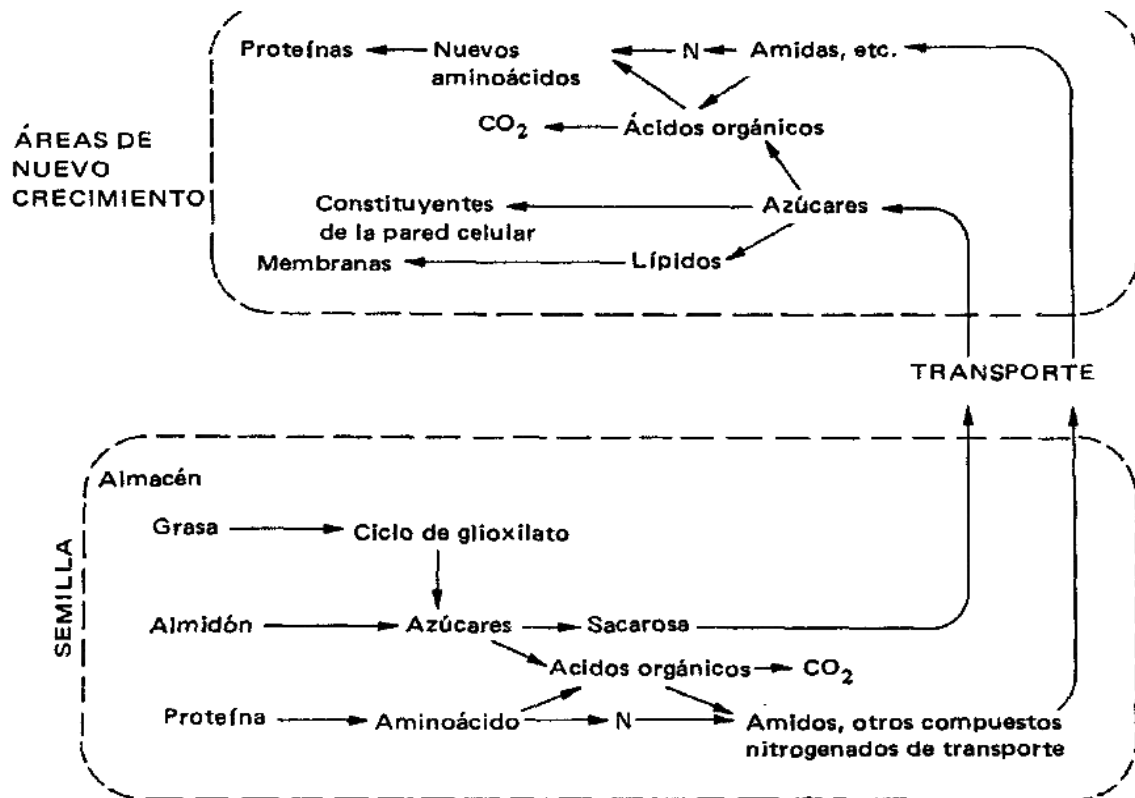
distribuida en los tejidos vegetales. La invertasa hidroliza a la sacarosa directamente dando una mezcla equimolar de glucosa + fructosa llamada de azúcares invertidos (la sacarosa es dextrorrotatoria, pero la mezcla de glucosa + fructosa es levorrotatoria, así que al hidrolizarse la dirección de la rotación queda invertida). El enlace glicosídico, que es el enlace energético de la sacarosa, se gasta para esta reacción. (Bidwell, 1993).

En el caso de la oxidación de la glucosa, si una planta respira carbohidratos, el valor RQ (coeficiente de respiratorio), relación entre moléculas de CO₂ emitidas y O₂ consumidos, será más próximo a la unidad (6CO₂/6O₂), en cambio si los sustratos respirados son ácidos orgánicos, el valor RQ será mayor que la unidad, porque el grado de oxidación de estos compuestos es mayor que el de los azúcares. (Ribas et al., 20013).

2.2.7.2. Síntesis de proteínas. Las proteínas se usan frecuentemente como sustratos de la respiración en las semillas. Esto puede ocurrir bajo condiciones de falta de alimento o durante la germinación de las semillas cuya reserva principal es proteína. Además, algunos tejidos y órganos sufren una continua destrucción y resíntesis de proteína (Figura 13). Esto puede ocurrir durante el crecimiento cuando hay un continuo cambio en los juegos de enzimas, desde las que dirigen las reacciones de crecimiento y desarrollo a las que dirigen reacciones características de tejidos maduros. (Bidwell, 1993).

Figura 13

Movilización de los recursos nutricionales en una semilla en germinación



Fuente: Bidwell (1993).

2.2.7.3. Síntesis de lípidos. En el caso de semillas oleaginosas, durante la germinación el contenido de lípidos también se ve modificado, justificado por la obtención de energía y esqueletos carbonados para la síntesis de otros compuestos. Las oleaginosas almacenan triglicéridos, los mismos que son degradados por las lipasas, obteniéndose glicerol y ácidos grasos (sintetizan acetyl-CoA por la β -oxidación). (Ribas et al., 20013).

La acetyl-CoA se forma por la β -oxidación de las grasas y es convertida a ácido oxaloacético por el ciclo del glioxilato (Figura 14) en los glioxisomas. El ácido oxaloacético se descarboxila por la operación inversa de una PEP-carboxilasa produciéndose CO₂ y PEP (fosfoenol piruvato). El PEP es luego reducido para formar PGA (Acido 3-fosfoglicérico) y yendo a la inversa del proceso EMP (Elmbden-Meyerhoff-Parnas), se forma fructosa-1, 6-difosfato y pasa a fructosa-6-fosfato por una fosforilasa (no por la acción inversa de una fosfohexo-kinasa), que a su vez puede convertirse en glucosa-1-fosfato que, con la fructosa-6-fosfato, forma el substrato para la síntesis de la sacarosa. (Bidwell, 1993).

3. Materiales y métodos

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITAL) perteneciente a la E.P. de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Peruana Unión-Filial Juliaca (3825 m.s.n.m.).

3.2. Materia prima

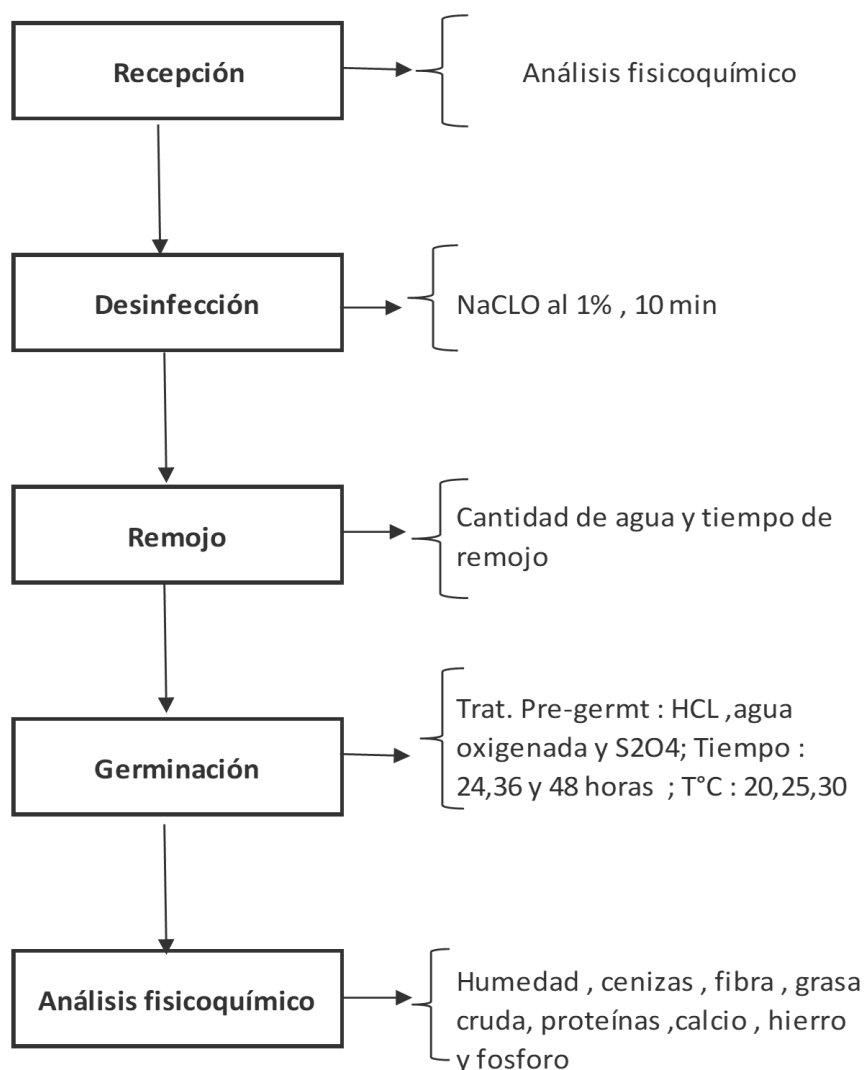
Las semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*) de las variedades: Blanca de Juli y Negra Collana se obtuvieron de la Cooperativa COOPAIN-CABANA de la cosecha del 2014-I, la variedad Pasankalla se obtuvo del mercado local de la ciudad de Juliaca .

3.3. Métodos de análisis

La serie de procesos que se llevaron a cabo se describe gráficamente en la Figura 15, que a continuación se presenta.

Figura 15

Diagrama de flujo de parámetros para germinación de quinua (Chenopodium quinoa)



Fuente: Elaboración propia (2016)

3.3.1. Etapa pre-germinativa

3.3.1.1. Determinación de la cantidad de agua de remojo (Q_{agua}). Se adaptó la metodología empleada por Bravo et al. (2013) Donde la Q_{agua} de remojo (Ecuación 2), se calcula tomando como datos, la humedad inicial de las semillas (H_i), la humedad final requerida (H_f) (45% que es el ideal para el inicio de la germinación).

$$Q_{\text{agua}} = \left[\left(\frac{100 - H_i}{100 - H_f} \right) - 1 \right] \times \text{número de semillas} \quad (2)$$

Se vio por conveniente hallar un medio para la adaptación en casos de industrialización, por ende, se halló factores de conversión (Tabla 6) por cada variedad a través del peso de 100 semillas, haciendo factible el uso del peso (gr) de las muestras, dándonos como resultado la Ecuación 3.

Tabla 6
Factores de conversión para la cantidad de agua (Q_{agua}) de la quinua

	Blanca de Juli	Pasankalla	Negra Collana
Factor	366.9725	368.3241	488.2813

Fuente: Elaboración propia

$$Q_{\text{agua}} = \left[\left(\frac{100 - H_i}{100 - H_f} \right) - 1 \right] \times \text{peso de muestra (gr)} \times \text{factor de conversión}/100 \quad (3)$$

3.3.1.2. Determinación del tiempo de imbibición (T_i). O tempo de imbibición fue determinado adaptando o descrito por Allauca (2005), donde, 3 g de semillas fueron colocados en tubos de ensayo de 15 mL juntamente con una determinada cantidad de agua (según el ítem 3.3.1.1). Los tubos fueron monitoreados a cada 15 minutos por espacio total de 3 horas, durante esos intervalos, el agua de imbibición era descartado y los tubos conteniendo las semillas eran centrifugados a 3500 por 20 minutos, con el objetivo facilitar a separación agua-semillas, después, se registró el peso de cada muestra (Ecuaciones. (4), (5) y (6)).

$$\%Hab = \frac{MBH - MBS}{MBH} \times 100 \quad (4)$$

$$\%Had = (\%Hab) - \%Hpm \quad (5)$$

$$\text{Veloc. de absorción} = \frac{\%Had - MBS}{t} \quad (6)$$

Donde, $\%Hab$ es el porcentaje de humedad adsorbido, $\% Had$ es el porcentaje de humedad adquirido, MBH es el peso de la muestra en base húmeda, MBS es el peso de muestra en base seca, $\% Hpm$ es el porcentaje propio de la muestra y T es el tiempo.

3.3.2. Etapa de germinación

Se usó un diseño Box Behnken con cuatro factores (variables independientes) ($k=3$) (Tabla 7), dando un total de 25 tratamientos sin puntos centrales. Siendo las variables respuesta o dependientes: la cantidad de azúcares reductores, el porcentaje, índice y velocidad de germinación. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. La germinación se llevó a cabo en ausencia de luz y otros factores como humedad del medio y presencia de gases no fueron monitoreados.

Además, cabe aclarar que por cuestiones de prácticas en el manejo de datos y al poseer variables cuantitativas y cualitativas como la variedad y el tratamiento pre-germinativo, se optó por emplear propiedades intrínsecas como densidad y pH respectivamente. En la Tabla 8 se ven detallados los niveles ya codificados usados para la optimización.

Tabla 7

Niveles codificados de las variables usadas en la optimización

Variable independiente	Unidades	Código de niveles		
		-1	0	1
Variedad	g/ml	0.2531	0.3897	0.4903
Tratamiento pre germinativo	pH	1.523	1.699	1.959
Tiempo	Horas	24	36	48
Temperatura	°C	20	25	30

Fuente: Elaboración propia (2016).

Los resultados se han expresado como promedio \pm el error estándar (EE). Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 5% ($p<0.05$) para comparación entre los resultados a través del programa STATISTICA de Statsoft (2010) y STATGRAPHICS CENTURION XV.

Tabla 8*Matriz de diseño Box Behnken*

Corrida	Variedad	Trat . Pregerminativo	Tiempo (hrs)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	0	0
2	-1	1	0	0
3	1	-1	0	0
4	1	1	0	0
5	0	0	-1	-1
6	0	0	-1	1
7	0	0	1	-1
8	0	0	1	1
9	-1	0	0	-1
10	-1	0	0	1
11	1	0	0	-1
12	1	0	0	1
13	0	-1	-1	0
14	0	-1	1	0
15	0	1	-1	0
16	0	1	1	0
17	-1	0	-1	0
18	-1	0	1	0
19	1	0	-1	0
20	1	0	1	0
21	0	-1	0	-1
22	0	-1	0	1
23	0	1	0	-1
24	0	1	0	1
25	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia (2016).

3.3.2.1. Aplicación de tratamientos pre-germinativos. Este procedimiento se hizo con el objetivo de romper la latencia de las semillas poder mejorar el rendimiento de las plántulas. Se optó por el tratamiento con estimulantes químicos adaptado de la metodología usada por Díaz y Camacho (2010).

a. Agua oxigenada (H_2O_2) al 5%

Las semillas se sumergieron en una solución al 5% de agua oxigenada durante 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se enjuagaron con agua corriente.

b. Ácido clorhídrico (HCL) al 1%

Las semillas se sumergieron en una solución al 1% durante 16 minutos y posteriormente se remojaron en agua corriente durante 15 minutos.

c. Ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 96%

Las semillas se sumergieron en la solución de H₂SO₄ durante 10 minutos, posteriormente se enjugaron las semillas con agua corriente para quitar el exceso del ácido.

3.3.2.2. Determinación de azúcares reductores (ARs)

a. Curva de calibración

Se aplicó el método descrito por Bedón et al. (2013). Se usó glucosa anhidra para hacer las diluciones a distintas concentraciones (Tabla 9).

Tabla 9

Preparación de soluciones de glucosa de diferente concentración a partir de una solución stock 40mM

Tubo	Concentración (mM.)	Agua destilada (ml)	Glucosa 40 mM.(ml)
0	0	5	0
1	2	4.75	0.25
2	4	4.5	0.5
3	6	4.25	0.75
4	8	4	1
5	10	3.75	1.25
6	20	2.5	2.5
7	40	0	5

Fuente: Bedón et al. (2013).

De cada tubo se toman 0.1 ml y se transfiere a un tubo de vidrio con tapón de rosca. Añadir 1 ml del reactivo DNS, incubándose posteriormente la mezcla en el bloque seco a 100°C durante 10 minutos, enfriar y determinar la absorbancia a 570 nm , utilizando como blanco la mezcla del tubo 0 .

b. Preparación del extracto crudo

El método fue sugerido por Bedón et al. (2013). Las semillas previamente germinadas fueron trituradas con Buffer fosfato 20mM con 6.7mM de cloruro de sodio a pH, 6.9 atemperado a 4°C en relación de (1w:5V). El filtrado obtenido se centrifugó a 2000 rpm durante 20 minutos, descartando el precipitado. El sobrenadante se centrifugó nuevamente a 4000 rpm durante 5 minutos recuperando el sobrenadante.

c. Evaluación de la actividad

En tubos de cristal de 10 ml se adicionan 0.5 ml de muestra y 0.5 ml del reactivo de DNS. Los tubos se colocan en baño de agua a 100 ° C por 5 min. Se enfrían hasta temperatura ambiente y se adiciona 5 ml de agua destilada. Se agita y se realiza la lectura a 570 nm en espectrofotómetro. (Bello et al., 2006)

3.3.2.3. Porcentaje de germinación. Se calculó según lo recomendado por Román et al. (2005). Tras el tiempo indicado para cada tratamiento se observó la cantidad de semillas que lograron germinar (se consideró una radícula > 1 mm) por la cantidad de semillas iniciales en total (Ecuación 7).

$$\% \text{ germinación} = (\text{granos germinados} / \text{granos totales}) \times 100 \quad (7)$$

3.3.2.4. Índice y velocidad de germinación. El índice de germinación (IG) es definido como la medida de tiempo de germinación en relación con la capacidad germinativa, es decir, es la sumatoria del número de semillas germinadas en la hora i (n_i) por la cantidad de horas tras la siembra (t_i) entre el número total de semillas (N) (Ecuación 8). La velocidad de germinación (M) es definida como la relación entre n_i y el t_i (Ecuación 9). Los cálculos se hicieron de acuerdo con Enríquez et al. (2004).

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N} \quad (8)$$

$$M = \sum \frac{(n_i)}{t} \quad (9)$$

3.3.3. Etapa pos-germinativa

3.3.3.1. Determinación de características fisicoquímicas de las semillas.

La metodología fue usada tanto para la determinación de características fisicoquímicas en las semillas antes y después de la germinación. Humedad según el método oficial de la AOAC 945.15 (Anexo 2), cenizas AOAC 945.38 (Anexo 3), proteínas AOAC 1990.002 (Anexo 4), grasas crudas AOAC 920.39 (Anexo 5), fibra cruda AOAC 962.09 (Anexo 6), determinación de calcio AOAC 1980 (Anexo 7), determinación de fósforo A.O.A.C. 1990 (Anexo 8) y determinación de hierro A.O.A.C. (Anexo 9).

4. Resultados y discusiones

4.1. Etapa pre-germinativa

4.1.1. Determinación de la cantidad de agua de remojo (Q_{agua})

En nuestro estudio se encontró que, la Q_{agua} necesaria para que las semillas alcancen en promedio 45% de humedad (Base húmeda) y se dé inicio al proceso germinativo. Se ve afectada por la variedad y el porcentaje de humedad inicial de la materia prima. Los valores de H_i por cada variedad obtenidos en nuestro caso (Tabla 10), fueron similares a los hallados por Apaza et al. (2013): Blanca de Juli 8.88 %, Negra Collana con 9.88 % y Pasankalla con 9.62 %.

Tabla 10

Determinación de la cantidad de agua (Q_{agua}) en tres variedades de quinua: Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana

Variedad	Humedad (%)		Semillas a hidratar (gr)	Q_{agua} (ml)
	Inicial de la materia prima (H_i)	Humedad requerida (H_f) ^a		
Blanca	10.8542 ± 0.081	45	3	6.83 ± 0.015
Pasankalla	8.2381 ± 0.1604	45	3	7.38 ± 0.035
Negra Collana	9.1232 ± 0.081	45	3	9.57 ± 0.005

Nota. Resultados expresados en promedio ± Error Estándar (EE). ^a: Base húmeda. Fuente: Elaboración propia (2016).

Para incrementar en un 34.148 % la humedad inicial (H_i) de las semillas de la variedad Blanca es preciso el doble aproximadamente de agua en función al peso de la semilla (p/v). En el caso de la Pasankalla, es necesario una proporción de agua similar a la variedad anterior, para generar un incremento de 36.762 % en su H_i . Finalmente, la Negra Collana requiere del triple de agua para cada gramo de semilla a hidratar (p/v) para que su humedad aumente en un 35.877 % y alcance finalmente el H_f para el proceso germinativo.

4.1.2. Determinación del tiempo óptimo de remojo (T_{remojo})

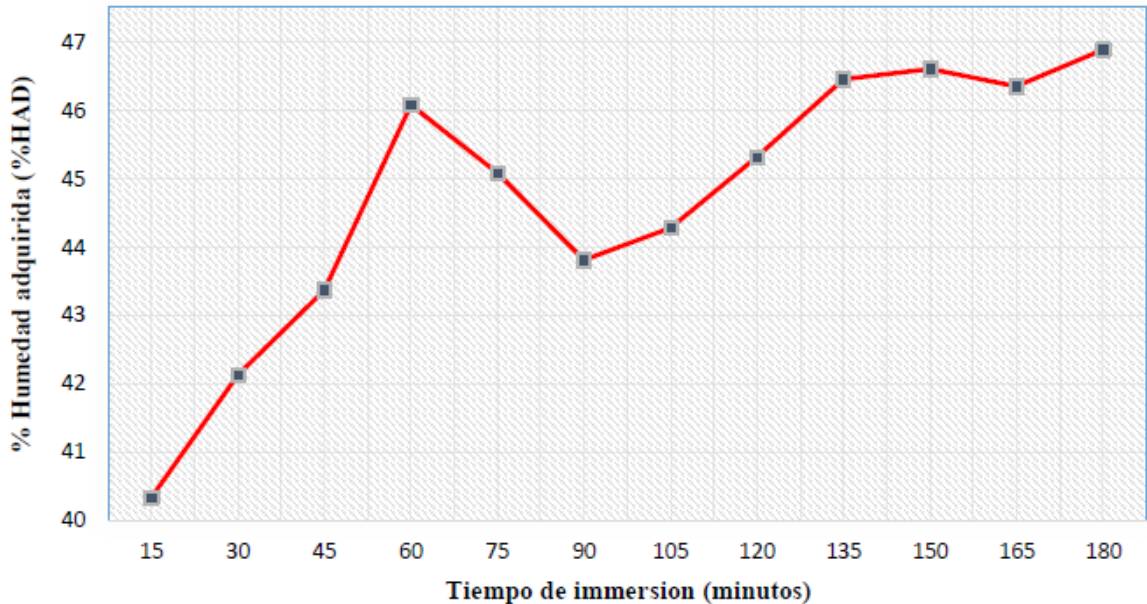
Se realizaron pruebas preliminares donde se realizó un monitoreo por hasta 10 horas, sin embargo, a tiempos mayores de 3 horas algunas variedades ya germinaban y el porcentaje de humedad adquirida (% Had) sobrepasaba el 47%, con el objeto de evitar lo anterior, se sugiere que el remojo de las semillas no sobrepase las 3 horas. Por lo cual se llevó a cabo un monitoreo cada 15 minutos para hallar el tiempo óptimo en el cual se alcance los 45% de humedad. Contrariamente a esto, Bravo (2013) en su estudio químico y nutricional de semillas de kiwicha (variedad Oscar Blanco) propone que el tiempo de remojo debe comprender entre 8 a 12 horas alcanzando humedades que van desde 48 a 53 %.

4.1.1.1. Quinoa variedad Blanca de Juli. El análisis de correlación ($p < 0.05$) indicó que, existe una relación positiva entre el tiempo y el % Had de la variedad Blanca de Juli (0.8338). Eso significa que, la absorción de agua en la cubierta seminal de esta variedad es directamente proporcional al tiempo de remojo (Figura 16).

A los 15 minutos ya se logra una humedad de 40.3328 %, luego a los 75 minutos se observa que se alcanza los 45.0699 %, esta rápida absorción de agua va acompañada de un aumento proporcional de la respiración (Goyoaga, 2005). Se observa un ligero descenso durante los minutos 90 y 105, con humedades de 43.7981 % y 44.2690%, respectivamente. Para iniciar con la absorción nuevamente, dicho comportamiento fue estudiado por Méndez et al. (2008) en semillas de maíz, (*Zea Mays L.*), caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) y quinchoncho (*Cajanus cajan (L.) Mill.*) donde se presentaron incrementos de las tasas hasta las 8, 10 y 12 horas después del remojo, respectivamente, tras el cual también se presentó un descenso de la imbibición.

Figura 16

Tasa de imbibición de quinua variedad Blanca de Juli



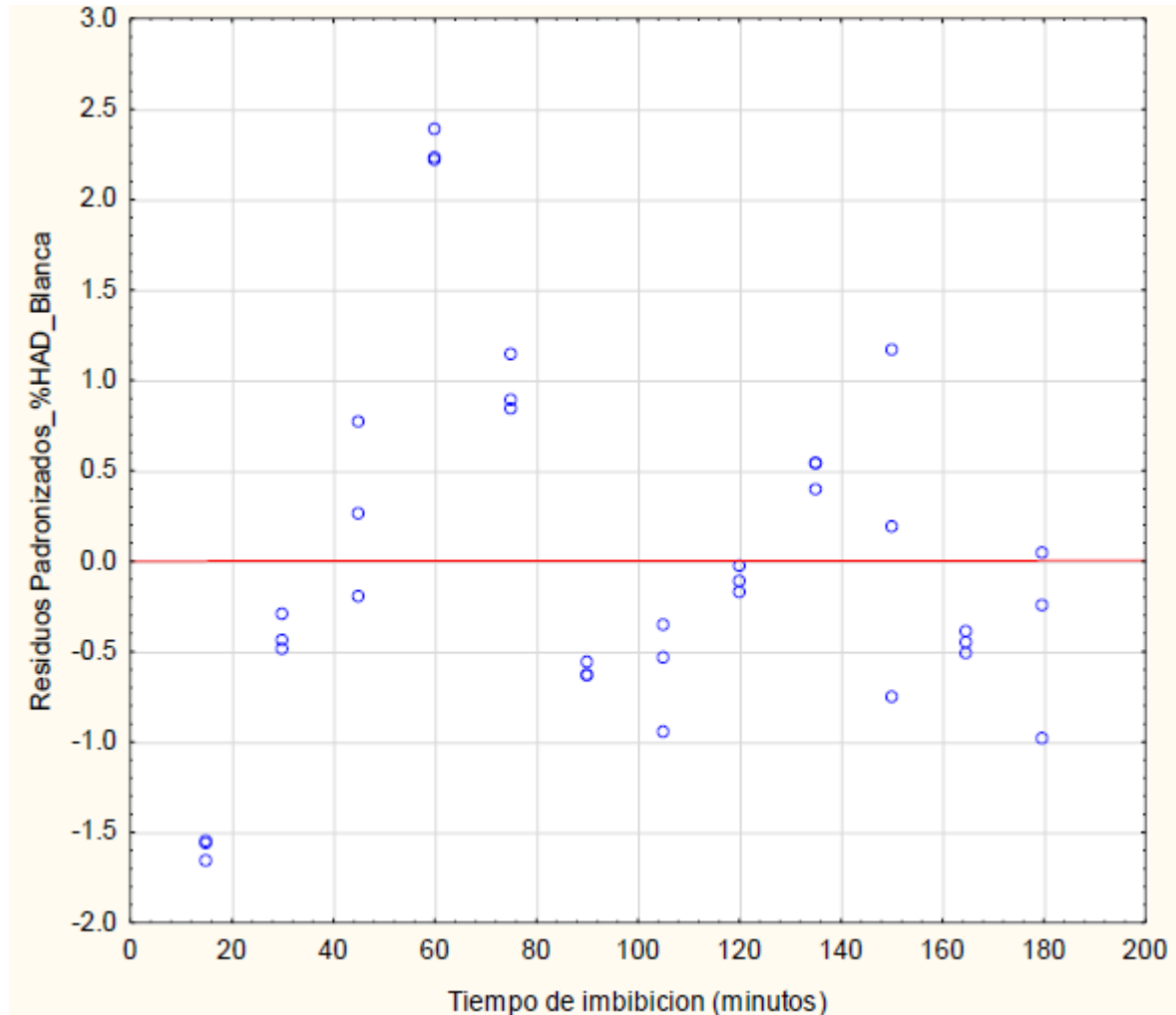
Nota. Comportamiento irregular del %Had en función del tiempo, función lineal medianamente significativa, $y = 41.6348 + 0.0316x$, $R^2 = 0.7157$ (R^2 basado en las medias de tiempo). Fuente: Elaboración propia (2016).

Se realizó el análisis de residuales o de errores estimados, que permite visualizar el ajuste de los datos al modelo (Figura 17). La normalidad de los errores se corroboró con la prueba de Lilleford (Anexo 9). Donde se hizo el ajuste a un modelo lineal simple, para obtener una ecuación que describiera el relacionamiento matemático entre la variable tiempo de remojo y el %Had. Obteniendo la Ecuación 10, donde se explica que, el aumento de un minuto en el tiempo de imbibición hace que el porcentaje de humedad adquirida (%Had) aumente en un 0.0316%.

$$\%HAD_{Blanca} = 41.6348 + 0.0316 * T_{remojo\ Blanca} \quad (10)$$

Figura 17

Bondad de ajuste de los residuales al modelo por tiempo de inmersión en la variedad Blanca de Juli



Fuente: Elaboración propia (2016).

Luego, se procedió a encontrar el tiempo óptimo de remojo (T_{remojo}) entonces se despejó la Ecuación 10, dando como resultado la Ecuación 11 que se muestra a seguir.

$$T_{\text{remojo-Blanca}} = \frac{\%HAD_{\text{Blanca}} - 41.6348}{0.03} \quad (11)$$

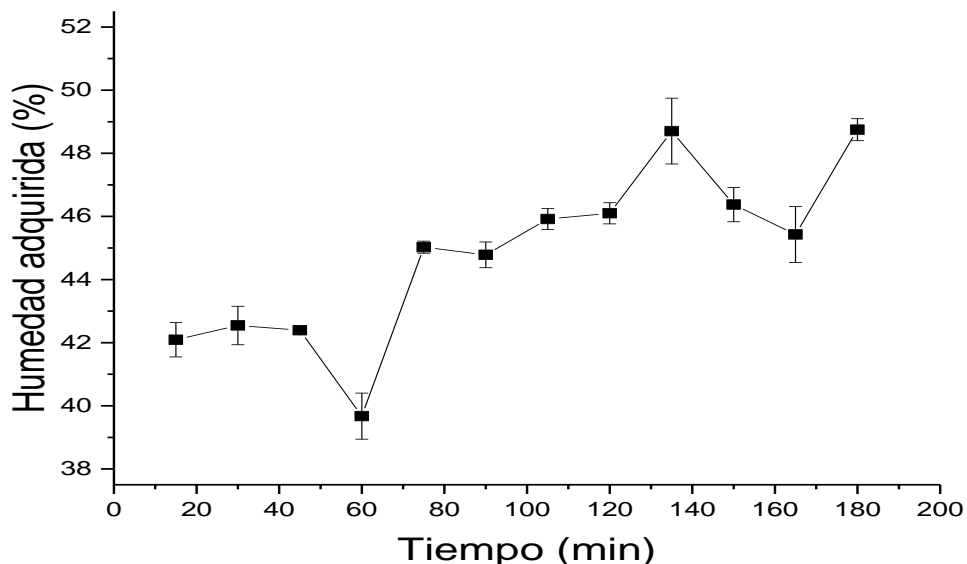
Sabiendo que el valor del %Had que se desea fue de 45% para las tres variedades, entonces, se reemplazó ese dato en la Ecuación 11, dando como resultado 112 minutos

aproximadamente en el caso de la variedad Blanca de Juli. Este último dato fue utilizado para los ensayos posteriores.

4.1.1.2. Quinua variedad Pasankalla. Esta variedad obtuvo un coeficiente de correlación ($p < 0.05$) positivo de 0.8075 respecto al tiempo de remojo, es decir, el aumento de la humedad adquirida (% Had) responde en función al paso del tiempo. Efectivamente en la Figura 18 se muestra este comportamiento proporcional.

Figura 18

Tasa de imbibición de quinua variedad Pasankalla



Nota. Se presentó un comportamiento irregular en el contenido en el %Had, función lineal medianamente significativa, $y = 40.8038 + 0.0411x$, $R^2 = 0.6711$ (R^2 basado en las medias de tiempo). Fuente: Elaboración propia (2016).

La curva de imbibición de la variedad Pasankalla inicia cerca de los 42.0919 %, a los 60 minutos se ve una depresión que bordea los 39.6727 %, después se recupera el ascenso hasta los 135 minutos, tras los cuales se observa un descenso nuevamente. Considerando otros factores constantes, la tasa de absorción de agua es proporcional a la magnitud del área de las semillas en contacto con el agua.

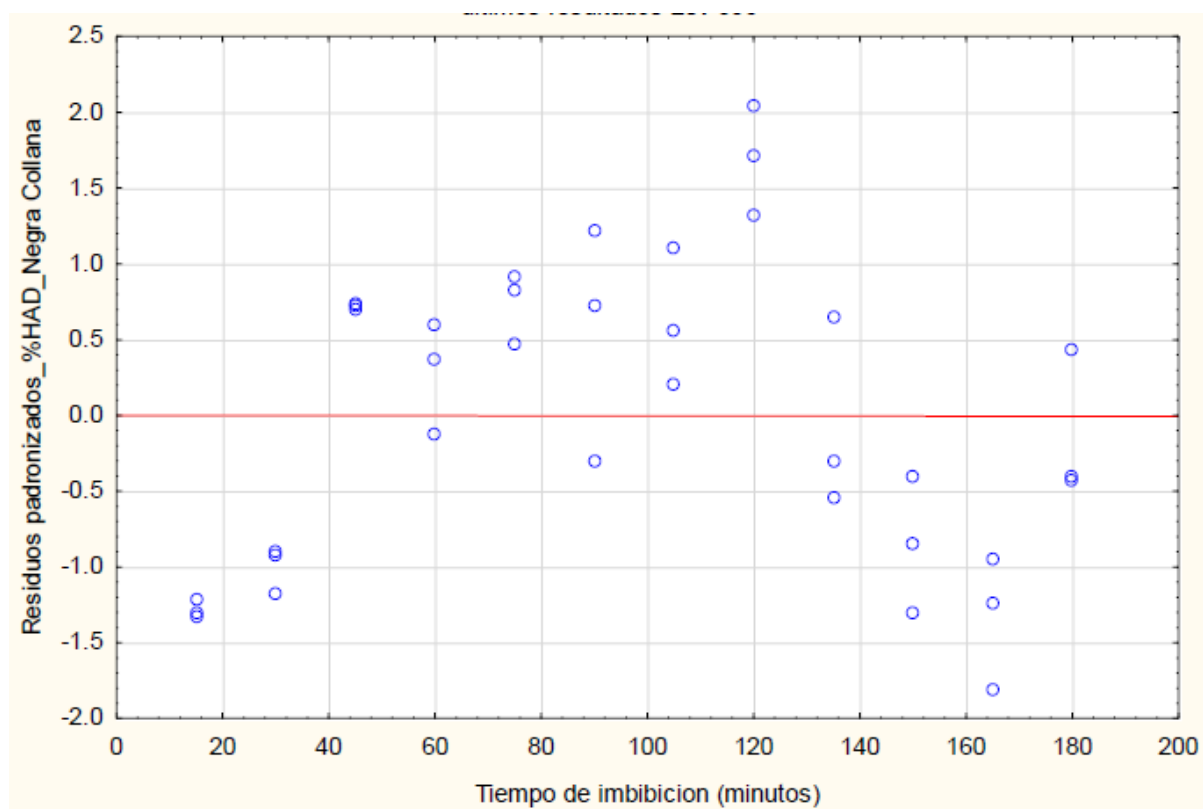
Se realizó el análisis de residuales o de errores estimados, que permite visualizar el ajuste de los datos al modelo (Figura 19). La normalidad de los errores se corroboró con la prueba de Lilleford (Anexo 9).

Al igual que con la variedad Blanca se llevó a cabo el ajuste a un modelo lineal simple, para obtener una ecuación que describiera el relacionamiento matemático entre la variable tiempo de remojo y el %Had de la variedad Pasankalla. Obteniendo la Ecuación 12, donde el aumento de tal solo un minuto en el tiempo de imbibición hace que el porcentaje de humedad adquirida (%Had) aumente en un 0.0411%

$$\%HAD_{Pasankalla} = 40.8038 + 0.0411 * T_{remojo} \quad (12)$$

Figura 19

Bondad de ajuste de los residuales al modelo por el tiempo de imbibición en la variedad Pasankalla



Fuente: Elaboración propia (2016).

Luego, se procedió a encontrar el tiempo óptimo de remojo (T_{remojo}) entonces se despejó la Ecuación 12, dando como resultado:

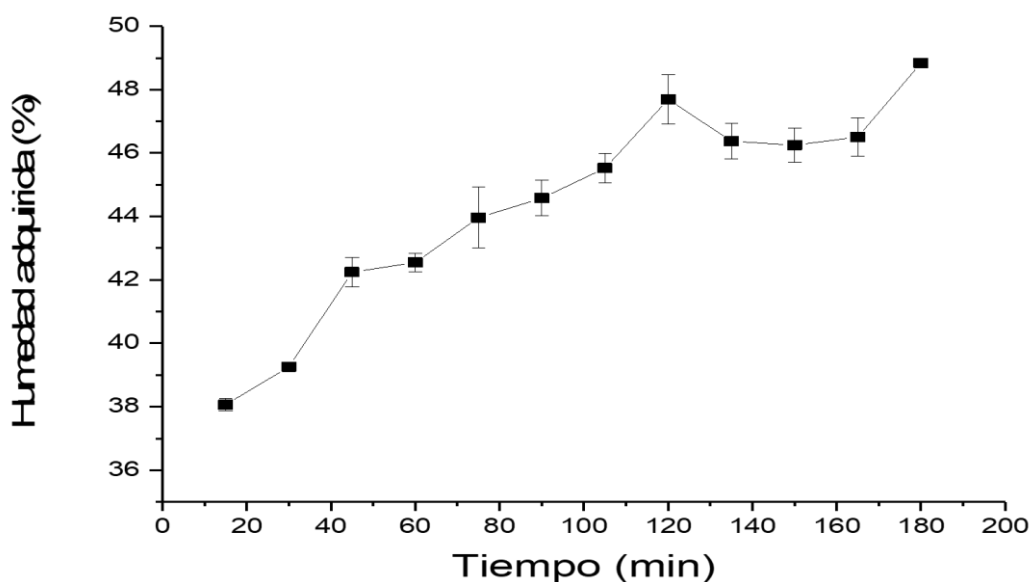
$$T_{\text{remojo-Pasankalla}} = \frac{\%HAD_{\text{Pasankalla}} - 40.0838}{0.0411} \quad (13)$$

Sabiendo que el valor del %Had (45%), entonces, se reemplazó ese dato en la Ecuación 13, dándonos como resultado 119 minutos aproximadamente. Este último dato fue utilizado para los ensayos posteriores de germinación.

4.1.1.3. Quinua variedad Negra Collana. El aumento del porcentaje de humedad adquirida (%Had) responde a un comportamiento directamente proporcional, respaldado por un coeficiente de correlación ($p < 0.05$) positivo de 0.9253 respecto al tiempo de remojo (Figura 20).

Figura 20

Tasa de imbibición de quinua variedad Negra Collana



Nota. Función lineal relativamente significativa, $y = 38.7974 + 0.0567x$, $R^2 = 0.8725$ (R^2 basado en las medias de tiempo). Fuente: Elaboración propia (2016).

La normalidad de los errores se corroboró con la prueba de Lilleford (Anexo 9). De la misma manera que con sus pares, se planteó el ajuste de un modelo lineal simple, para

obtener una ecuación que describió el relacionamiento matemático entre la variable tiempo de remojo y el %Had de la Negra Collana. Obteniendo se la Ecuación 14, donde se explica que, el aumento de tal solo un minuto en el tiempo de remojo hace con que el porcentaje de humedad adquirida (%Had) aumente en un 0.0567%.

$$\%HAD_{NegraCollana} = 38.7974 + 0.0567 * T_{remojo} \quad (14)$$

Se procedió a encontrar el tiempo óptimo de remojo (T_{remojo}) entonces se despejó la Ecuación 14, dando como resultado:

$$T_{remojo-NegraCollana} = \frac{\%HAD_{NegraCollana} - 38.7974}{0.0567} \quad (15)$$

Sabiendo que el valor del %Had (45%), entonces, se reemplazó ese dato en la Ecuación 15, dándonos como resultado 109 minutos aproximadamente.

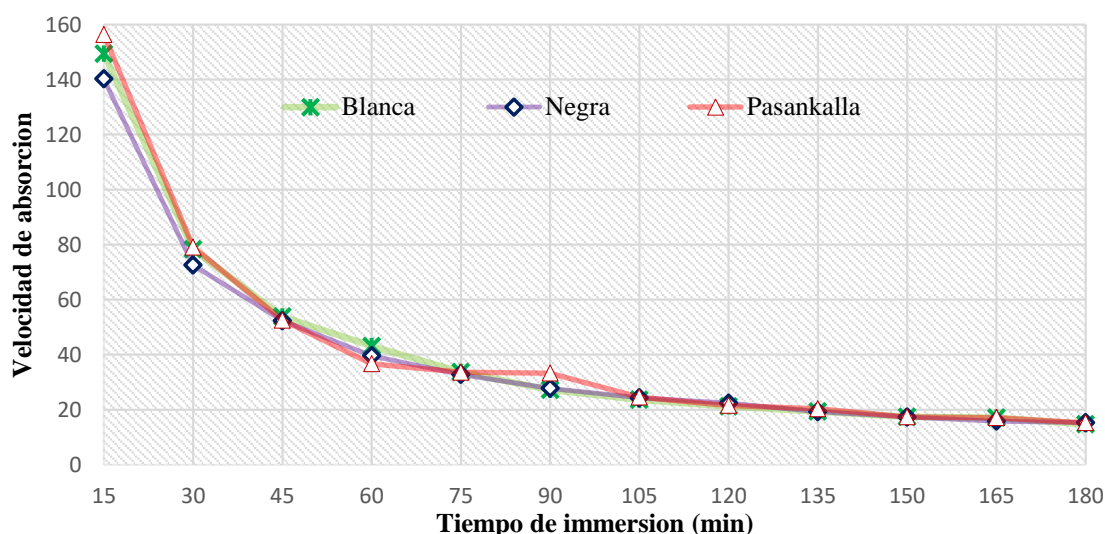
4.1.1.4. Velocidad de absorción de agua en función del tiempo de remojo.

Se calculó la velocidad de absorción por parte de las semillas de cada variedad, dicho valor esta expresado en porcentaje de la cantidad total con respecto al tiempo (%/t). Se realizó un análisis de correlación para cada variedad ($p < 0.05$): Blanca de Juli (-0.795793), Pasankalla (-0.776565) y Negra Collana (-0.796207), donde se halló que, la velocidad de absorción de cada variedad están correlacionada negativamente respecto al tiempo de inmersión, es decir, cuanto mayor sea el tiempo de remojo menor será la velocidad de absorción de agua (Figura 21).

En los primeros 15 minutos evaluados, el ingreso de agua por las paredes de las semillas es significativamente rápido para las tres variedades, siendo esto respaldado por Marassi (2013): "Al inicio el ingreso de agua es rápido. Las macromoléculas y estructuras se rehidratan y recuperan sus formas funcionales, durante este periodo, los solutos de bajo peso molecular pueden perderse desde las semillas".

Figura 211

Velocidad de absorción de agua en tres variedades de quinua



Nota. Funciones potenciales altamente significativas para cada variedad (Blanca: $y=1857.7 x^{-0.09}$, $R^2=0.9982$; Negra Collana: $y=1559.8 x^{-0.895}$, $R^2=0.9992$; Pasankalla: $y=1800 x^{-0.919}$, $R^2=0.9915$, cálculos de R^2 basados en las medias de tiempo). Fuente: Elaboración propia (2016).

La velocidad de absorción de agua varía conforme la especie, con el número de poros distribuidos sobre la superficie del tegumento, disponibilidad de agua, temperatura, presión hidrostática, área de contacto semilla/agua, fuerzas intermoleculares, composición química y calidad fisiológica de la semilla (Longo et al., 1998). En la Tabla 11 se podrá visualizar los datos colectados por cada variedad en cuanto al porcentaje de absorción de agua (% Had) y la velocidad de absorción de las mismas. Todos los estudios se realizaron por triplicado.

Por intermedio del ajuste a un modelo lineal se logró obtener las relaciones matemáticas entre el tiempo de remojo y el %Had, siendo los resultados: en el caso de la variedad Blanca de Juli de concluye que a los 112 minutos se obtiene una humedad de 45% en la semilla, así mismo en la variedad Pasankalla el T_{remojo} es de 119 minutos y finalmente en la Negra Collana el tiempo necesario y óptimo para alcanzar una humedad de 45% es a los 109 minutos.

Tabla 11

Determinación del porcentaje de humedad adquirida (%Had) (Base húmeda) y la velocidad de absorción de agua de quinua: Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana

Tiempo de inmersión (min)	Blanca de Juli		Pasankalla		Negra Collana	
	% HAD	Velocidad de absorción	% HAD	Velocidad de absorción	% HAD	Velocidad de absorción
15	40.3328 ± 0.063 ^b	149.3272 ± 0.254 ^a	42.0919 ± .103 ^c	156.3548 ± .412 ^a	38.0650 ± 0.076 ^f	140.2516 ± .306 ^a
30	42.1314 ± 0.114 ^a	78.2611 ± 0.228 ^b	42.5447 ± .730 ^c	79.0849 ± .461 ^b	39.2605 ± 0.190 ^f	72.5198 ± 0.382 ^b
45	43.3627 ± 0.541 ^c	53.8149 ± 0.721 ^c	42.3956 ± .192 ^c	52.5257 ± .255 ^c	42.2450 ± 0.024 ^e	52.3252 ± 0.032 ^c
60	46.0694 ± .101 ^{efg}	43.0678 ± 0.100 ^d	39.6727 ± .408 ^a	36.6706 ± .407 ^d	42.5493 ± .463 ^{de}	39.545 ± 0.467 ^d
75	45.0699 ± 0.183 ^{de}	33.6537 ± 0.147 ^e	45.0267 ± 0.332 ^{de}	33.6200 ± .265 ^g	43.9646 ± 0.286 ^{cd}	32.7701 ± 0.228 ^e
90	43.7981 ± 0.042 ^c	27.1975 ± 0.028 ^f	44.7844 ± 0.332 ^e	33.2777 ± .2653 ^g	44.5799 ± 0.964 ^{bc}	27.7179 ± 0.642 ^f
105	44.2690 ± 0.342 ^{cd}	23.5812 ± 0.195 ^g	45.9162 ± 0.334 ^{de}	24.5225 ± .190 ^e	45.5266 ± 0.558 ^{bf}	24.3002 ± 0.320 ^g
120	45.3111 ± .080 ^{def}	21.1537 ± 0.040 ^h	46.0993 ± 1.042 ^{de}	21.5475 ± .520 ^h	47.6962 ± 0.453 ^e	22.3465 ± 0.227 ⁱ
135	46.4469 ± 0.093 ^{fg}	19.3091 ± 0.042 ⁱ	48.7021 ± 0.540 ^b	20.3107 ± .241 ^h	46.3734 ± 0.779 ^{ef}	19.2762 ± 0.347 ^j
150	46.5969 ± 1.069 ^g	17.4319 ± 0.428 ^j	46.3736 ± 0.887 ^d	17.3485 ± 0.355 ⁱ	46.2528 ± 0.559 ^{ef}	17.3004 ± 0.224 ^k
165	46.3410 ± 0.065 ^{fg}	17.1403 ± 0.423 ^j	45.4278 ± 0.427 ^{de}	17.0671 ± 0.350 ⁱ	46.5076 ± .542 ^{aef}	15.8204 ± 0.197 ^l
180	46.8810 ± 0.590 ^g	14.6265 ± 0.197 ^k	48.7474 ± 0.347 ^b	15.2484 ± 0.116 ^f	48.8409 ± 0.610 ^a	15.2802 ± 0.203 ^l

Nota. % HAD: porcentaje de humedad adquirida en base húmeda. Resultados expresados en promedio ± Error Estándar (EE). *Promedios seguidos por la misma letra, dentro de cada columna, son iguales, según la prueba de Tukey a una p<0.05 DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Fuente: Elaboración propia (2016).

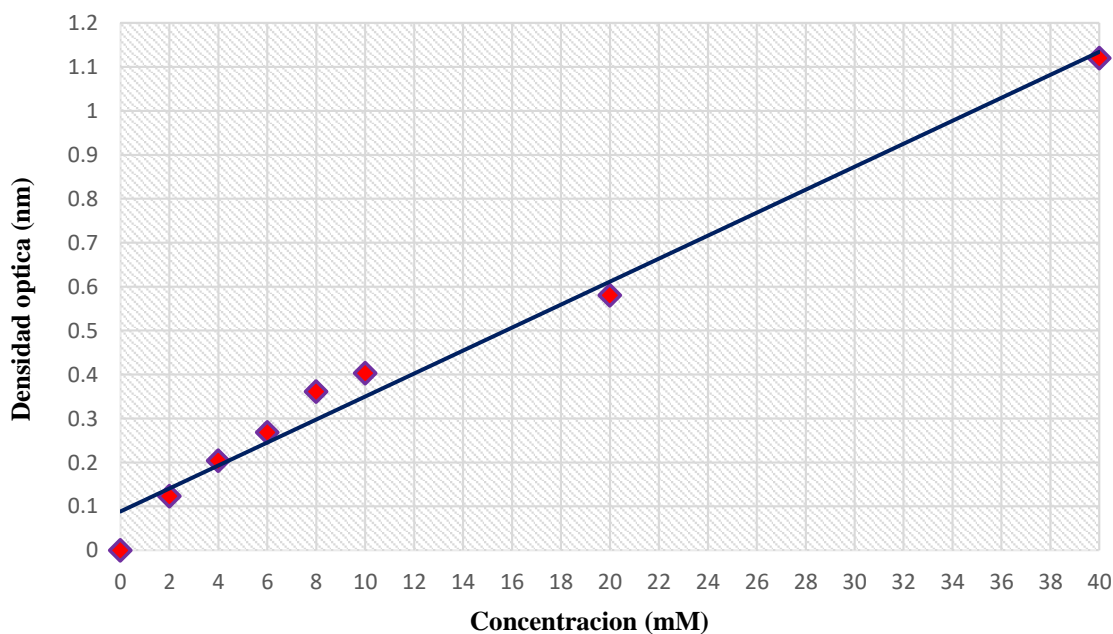
4.2. Etapa de germinación

4.2.1. Determinación de azúcares reductores (ARs)

Se optó por determinar este valor sabiendo que, durante la germinación existe una degradación amilásica (α -amilasas y β -amilasas) sobre el almidón de las semillas en azúcares sencillos (oligosacáridos solubles: maltosa y glucosa), los cuales pueden ser cuantificados mediante el método DNS. Este método permite calcular dichos valores mediante el uso de una curva patrón (Figura 22).

Figura 22

Curva Patrón de glucosa por el método DNS



Fuente: Elaboración propia (2016).

En la Tabla 12, se muestra los valores espectrofotométricos (nm), los cuales alcanzaron altos índices de correlación ($R^2=0.98$), para la curva patrón de glucosa.

Tabla 12*Densidad óptica a 570 nm de cada dilución realizada para curva patrón*

Concentración mM. /ml	0	2	4	6	8	10	20	40
Absorbancia (570 nm)	0	0.123	0.204	0.268	0.361	0.403	0.58	1.12

Fuente: Elaboración propia (2016)

El análisis de varianza de la cantidad de Azúcares Reductores (ARs) se muestra en la Tabla 13. Todos los efectos e interacciones que presentaron una probabilidad menor que 0.05 fueron significativos, es decir, la variedad, el tiempo, la interacción entre estos dos. El estadístico R^2 explica en un 65.9497% la variabilidad en los Azúcares Reductores en el modelo y el R^2 (ajustado)=58.0046%.

Tabla 13*Análisis de Varianza para la variable respuesta: Azúcares Reductores (ARs)*

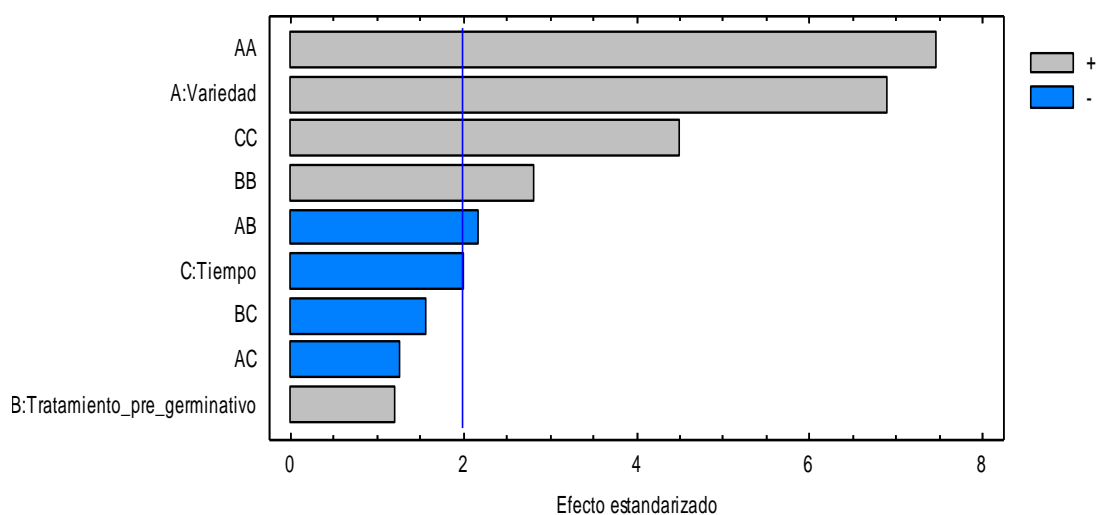
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Variedad	867.065	1	867.065	47.65	0
B:Tratamiento_pre_germinativo	27.3246	1	27.3246	1.5	0.2248
C:Tiempo	73.2644	1	73.2644	4.03	0.049
AA	1011.36	1	1011.36	55.58	0
AB	87.0431	1	87.0431	4.78	0.0323
AC	29.8913	1	29.8913	1.64	0.2045
BB	145.097	1	145.097	7.97	0.0063
BC	45.6084	1	45.6084	2.51	0.1182
CC	368.331	1	368.331	20.24	0
Error total	1182.73	65	18.1958		
Total (corr.)	3020.62	74			

Nota: $R^2=65.947\%$; R^2 (Ajustado)=58.0046%. *Ítems resaltados en rojo, dentro de la columna Valor-P, son estadísticamente significativos a una $p<0.05$. Fuente: Elaboración propia (2016).

En el diagrama de Pareto (Figura 23), se representan los efectos estandarizados con $p=0.05$.

Figura 23

Diagrama de Pareto estandarizada para ARs



Fuente: Elaboración propia (2016).

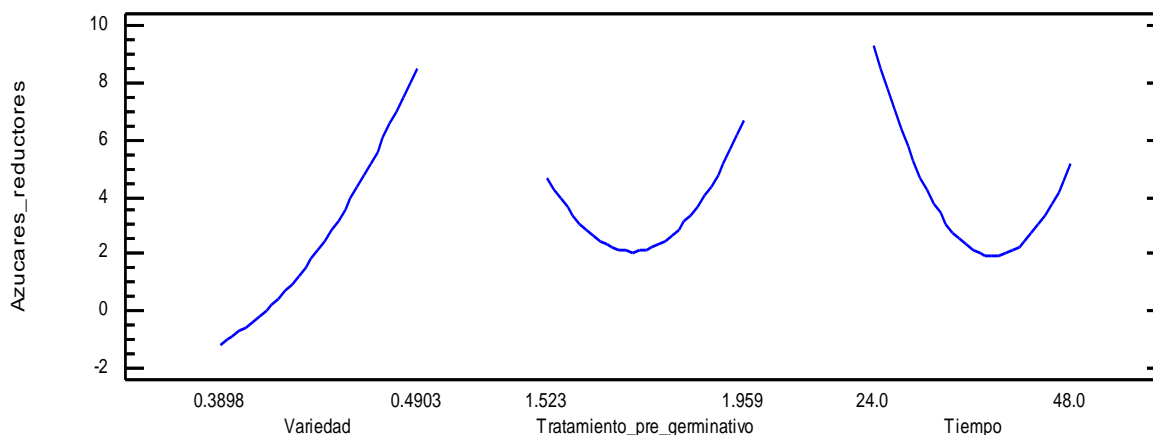
La longitud de cada barra es proporcional al valor del estadístico-t calculado para el efecto correspondiente. En nuestro caso, se puede apreciar que existen cinco barras más allá de la línea vertical, lo cual significa que, son estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Como puede observarse, el término cuadrático de la variedad fue el factor más importante en este modelo, seguido por el término lineal de la misma variable, el término cuadrático del tiempo y tratamiento pre-germinativo, la interacción entre la variedad y el tratamiento pre-germinativo y finalmente el término lineal del tiempo ($p < 0.05$). Por otra parte, los términos lineales del tratamiento pre-germinativo y la temperatura no resultaron ser significativas ($p > 0.05$)

Analizando la Figuras 23 y 24, puede establecerse que los términos cuadráticos de la variedad fue la variable más significativa en cuanto al contenido de Azúcares Reductores (mg/ml), lo cual indica la presencia de curvatura en el modelo y con ello un posible máximo contenido de ARs para ciertos valores de las variables analizadas.

El segundo efecto más importante fue el término lineal de la variedad. El valor positivo de su coeficiente señala que la cantidad de ARs fue favorecida cuanto más alta era la densidad de la semilla por ende la variedad Blanca de Juli.

Figura 24

Gráfico de efectos principales para el contenido de Azucares reductores



Fuente: Elaboración propia (2016).

Las líneas indican el cambio estimado en la cantidad de ARs conforme cada factor es movido de su nivel inferior a su nivel superior, manteniendo constante todos los demás factores con un valor a la mitad de sus respectivos niveles. Notamos que, existen dos variables significativas sobre el contenido de ARs y por ende poseen mayor impacto en la respuesta que otros, como el caso de la temperatura. Por ejemplo, el contenido promedio de ARs si se opta por la variedad Pasankalla ($\delta=0.3898$ gr/ml) es aproximadamente un poco más de cero, mientras que el contenido de ARs cuando se emplea la variedad Blanca de Juli es aproximadamente de 9.

4.2.1.1. Optimización de los factores estudiados sobre la cantidad de Azucares Reductores (ARs). Se obtiene así el polinomio de superficie de respuesta y su respectiva grafica que permite trazar las condiciones más adecuadas para maximizar el porcentaje de germinación. De la Ecuación 16 se observa que las variables AC, AD, BC, BD Y CD interactúan, mejorando la función de utilidad a medida que aumentan sus valores dentro del dominio experimental. Además, los efectos cuadráticos permiten evaluar eventuales curvaturas que permitirán definir el campo óptimo, según se muestra en la gráfica de superficie de respuesta (Figura 25).

$$\begin{aligned}
ARs = & 201.511 - 98.7926 A - 298.198 B + 0.119829 C + 5.54697 D \\
& + 486.289 A^2 - 78.6175 A - 1.10218 AC - 2.92999 AD + 96.0635 B^2 \\
& - 0.577691 BC + 0.793734 BD + 0.0231787 C^2 - 0.0188333 CD \\
& - 0.104458 D^2
\end{aligned}
\tag{16}$$

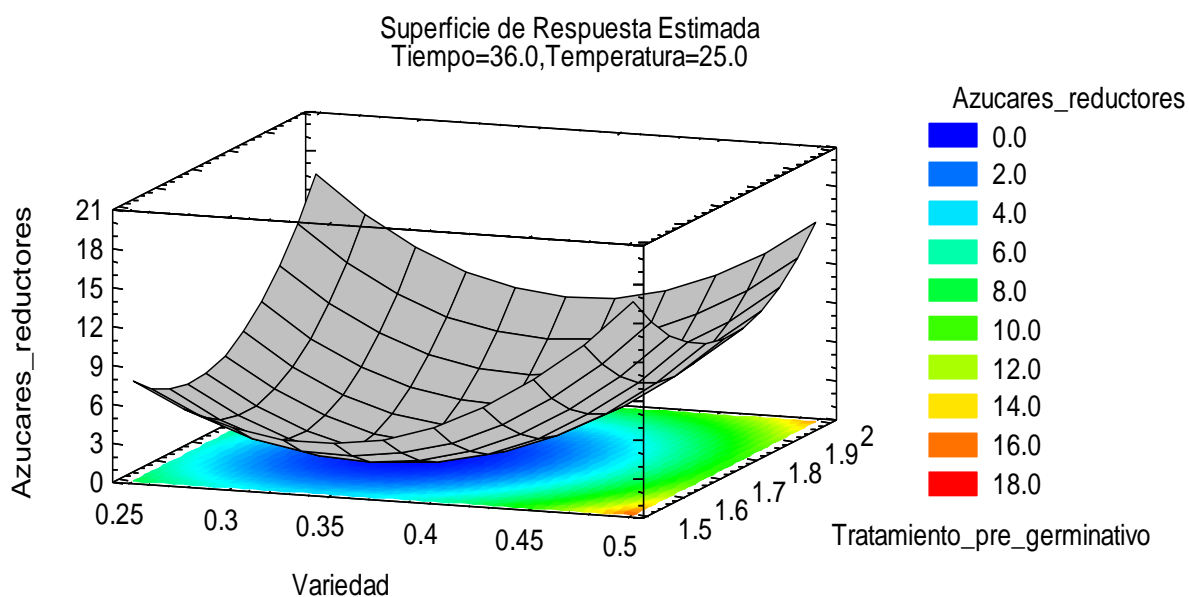
Dónde:

- ARs : Azúcares Reductores (mg/ml)
- A : Variedad
- B : Tratamiento pre-germinativo
- C : Tiempo
- D : Temperatura

Se tomaron como ejes xy, las variables variedad y tratamiento pre-germinativo ya que la interacción de estas era significativa ($p < 0.05$).

Figura 25

Superficie de respuesta del contenido de Azucares reductores



Fuente: Elaboración propia (2016).

Por otro lado, factores de tiempo y temperatura permanecieron constantes en sus valores medio (0). Variedades como la Blanca de Juli ($\delta=0.4903$ gr/ml) muestran mejores resultados para los ARs. El agua oxigenada aparentemente es el más efectivo de todos permitiendo que el contenido de azucares alcance los 14-16 mg/ml, muy seguido del

tratamiento con Ácido clorhídrico que hizo con que los azúcares bordeen los 12-14 mg/ml, y el menos eficaz resultado la aplicación de ácido sulfúrico, viendo que este es un ácido en demasía fuerte, se asume que interfirió con la actividad enzimática propia de la germinación, solo permitió valores de 0-4 mg/ml (región azul-celeste).

El incremento de los azúcares reductores durante la germinación se explica por la movilización e hidrólisis de los polisacáridos de las semillas, las amilasas promueven la hidrólisis de los polisacáridos en azúcares simples, con lo cual podría explicarse el incremento de los niveles de azúcares reductores durante los primeros periodos de germinación de las semillas (Satyanarayana et al., 2011). Finalmente, la Tabla 14 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza los ARs sobre la región indicada.

Tabla 14
Diseño optimizado para Azúcares Reductores

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Variedad	0.2531	0.4903	0.4903
Tratamiento pre germinativo	1.523	1.959	1.523
Tiempo	24	48	24.0233
Temperatura	20	30	23.3401

Nota. Meta: maximizar contenido, valor optimo = 18.7598 mg/ml. Fuente: Elaboración propia (2016)

El valor óptimo para la variedad nos dice que es aquella que posee una densidad de 0.4903 g/ml, siendo la Blanca de Juli. El tratamiento pre-germinativo más adecuado es aquel que posee un pH de 1.523, que es, el agua oxigenada. Con respecto al tiempo es de 24.0233 horas aproximadamente, la temperatura optimizada fue de 23.34°C.

4.2.2. Porcentaje de germinación

Se efectuó el análisis de varianza, con el que se precisa si existe relación significativa entre los factores y el porcentaje de germinación (Tabla 15).

Tabla 15*Análisis de Varianza para la variable respuesta: Porcentaje de germinación (%)*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Variedad	27052.9	1	27052.9	256.29	0
B:Tratamiento_pre_germinativo	112.992	1	112.992	1.07	0.3047
C:Tiempo	59.8951	1	59.8951	0.57	0.454
AA	41787.4	1	41787.4	395.87	0
AB	2764.52	1	2764.52	26.19	0
AC	0.544617	1	0.544617	0.01	0.943
BB	999.496	1	999.496	9.47	0.0031
BC	147.611	1	147.611	1.4	0.2413
CC	840.945	1	840.945	7.97	0.0063
Error total	6861.25	65	105.558		
Total (corr.)	62326.2	74			

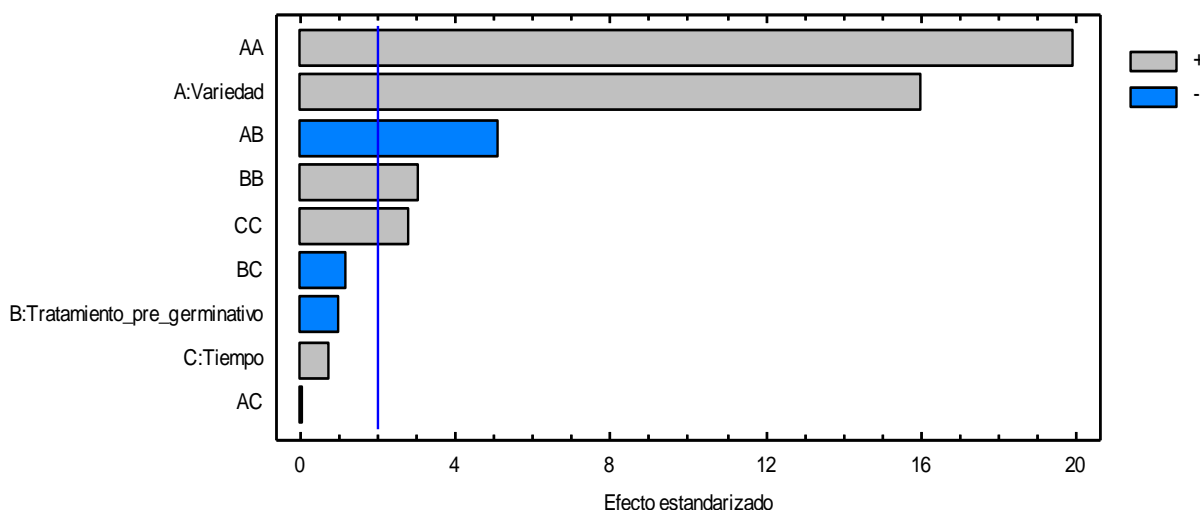
Nota: $R^2=89.1952\%$; R^2 (Ajustado)= 86.6741% . *Ítems resaltados en rojo, dentro de la columna Valor-P, son estadísticamente significativos a una $p<0.05$. Fuente: Elaboración propia (2016).

Todos los efectos, ya sean términos lineales o cuadráticos e interacciones, que presentaron una probabilidad menor que 0.05 fueron significativos, es decir, la variedad (Lineal y cuadrática), la interacción de la variedad con el tratamiento pre-germinativo, y los términos cuadráticos del tratamiento pre germinativo y el tiempo. El estadístico R^2 indica en un 89.1952 % la variabilidad del porcentaje de germinación y el R^2 (ajustado)= 86.6741% .

El análisis estadístico indica que el modelo propuesto es medianamente adecuado, ya que en relación al valor R^2 correspondiente al porcentaje de germinación este fue de 89.1952%. Cuanto más se acerca al 100% este valor estadístico mejor describirá el ajuste a datos reales. En el diagrama de Pareto (Figura 26), se representan los efectos estandarizados con $p=0.05$.

Figura 26

Diagrama de Pareto estandarizada para el porcentaje de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016).

La longitud de cada barra es proporcional al valor del estadístico-t calculado para el efecto correspondiente. En la Figura 26, se aprecia que son 5 barras las cuales pasan la línea vertical, mostrándose como los factores estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Es así que, la variable temperatura se despreció para este análisis al no alcanzar significancia estadística ($p > 0.05$). El término cuadrático de la variedad nuevamente es el factor con mayor importancia en el porcentaje de germinación, indicando la presencia de una curvatura en el modelo y con ello un posible máximo en el porcentaje para ciertos valores de las variables analizadas (Figura 26). El segundo factor destacable fue la variedad. El valor positivo de su coeficiente señala que el porcentaje de germinación asciende cuando la variedad toma valores de densidad altos. La interacción de la variedad y la aplicación de tratamientos pre-germinativos se muestran como un tercer factor en orden de relevancia a la hora de influir sobre el porcentaje de germinación, solo que en este caso este factor presenta un coeficiente negativo por ende esto se interpreta como, cuanto menor sea la interacción entre la variedad y el tratamiento mejor será el porcentaje de germinación.

Analizando la Figura 27, se nota claramente que, la variedad destaca como factor influyente en el porcentaje de germinación ($p < 0.05$). Por ejemplo, cuando la variedad toma

valores bajos como el caso de la Pasankalla ($\delta=0.3898$ g/ml) el porcentaje de germinación desciende y llega a alcanzar valores negativos, por el otro lado si se emplean variedades con altas densidades como la Blanca de Juli entonces el porcentaje también incrementa, llegando a 47% en promedio.

Figura 27

Gráfico de efectos principales para el porcentaje de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016).

4.2.2.1. Optimización de los factores estudiados sobre el porcentaje de germinación

En base a los resultados obtenidos a partir del ANOVA y de los diagramas de Pareto correspondientes se observó como el porcentaje de germinación puede ser ajustado mediante un modelo de superficie de respuesta. En la Ecuación 17 determina la combinación óptima de los factores que permiten maximizar, así como predecir el comportamiento del porcentaje de germinación bajo el diseño Box-Behnken.

% Germinacion

$$\begin{aligned}
 &= 821.68 - 2075.88 A - 566.447B - 0.917288C + 3.72971D \\
 &+ 3773.12 A^2 - 449.76 AB + 0.148774 AC + 1.99366 AD \\
 &+ 219.913B^2 - 1.03928 BC + 0.896824 BD + 0.0391327 C^2 + 0.0 CD \\
 &- 0.121263 D^2 \qquad \qquad \qquad (17)
 \end{aligned}$$

Dónde:

- ARs : Azucares Reductores (mg/ml)
- A : Variedad
- B : Tratamiento pre-germinativo
- C : Tiempo

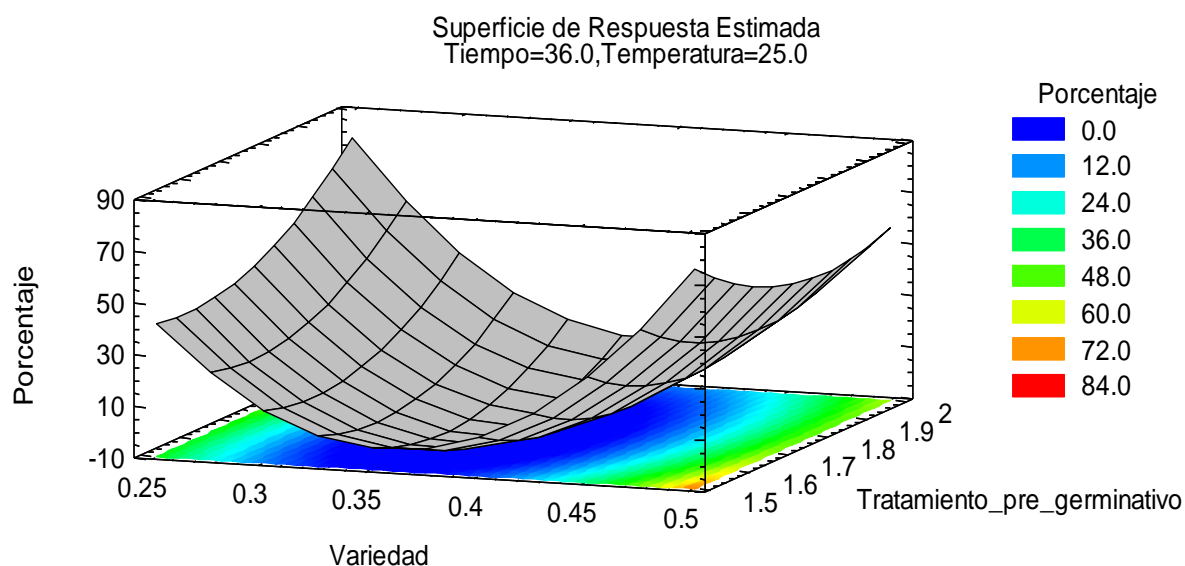
D : Temperatura

Queda así establecido el polinomio de superficie de respuesta y su respectiva grafica (Figura 28) que permite obtener las condiciones de optimalidad para el porcentaje de germinación. Del polinomio anterior se observa que las variables AB, BC Y BD actúan de manera sinérgica, provocando mejora de la función de utilidad a medida que aumentan sus valores dentro del dominio experimental. Se tomaron como ejes xy, las variables variedad y tratamiento pre-germinativo ya que la interacción de esta era significativa ($p < 0.05$). Dejando las otras dos variables: tiempo temperatura constantes en sus niveles medios (0) de 36 horas y 25°C respectivamente.

En la Figura 28, se puede apreciar que la zona de mayor valor (roja) está dentro del cuadrante inferior derecho de la superficie de contorno, y está situada dentro de la interacción de la variedad Blanca de Juli ($\delta = 0.4903$) y el un pH de 1.523 por parte del H₂O₂. En tanto, la zona azul-celeste describe valores de entre 0 a 24%, valores bajos que se dan cuando se elige la variedad Pasankalla y ácido sulfúrico como pre-tratamiento. Mientras que, la zona verde izquierda describe el comportamiento que presenta el porcentaje cuando se elige la variedad Negra Collana y el ácido clorhídrico, alcanzando porcentajes de 36-48% de germinación.

Figura 28

Superficie de respuesta del porcentaje de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016).

La Tabla 16 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza el Porcentaje sobre la región indicada.

Tabla 16

Diseño optimizado para el Porcentaje de germinación

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Variedad	0.2531	0.4903	0.4903
Tratamiento pre germinativo	1.523	1.959	1.523
Tiempo	24	48	48
Temperatura	20	30	25.0403

Nota: Meta: maximizar porcentaje de germinación, valor optimo= 72.1572%. Fuente: Elaboración propia (2016).

El valor óptimo de densidad para la variedad fue de 0.4903, es decir, la Blanca de Juli, el agua oxigenada como tratamiento químico con un pH de 1.523, con un tiempo de 48 horas y a una temperatura de 25.04°C llevan a obtener un 72.1572% de germinación.

4.2.3. Índice de germinación

El análisis de varianza para el índice de germinación se muestra en la Tabla 17. Todos los efectos e interacciones que presentaron una probabilidad menor que 0.05 fueron significativos, es decir, la variedad, interacción del tratamiento con la variedad, interacción del tratamiento pre germinativo y el tiempo. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 83.1255% de la variabilidad del índice de germinación y un R^2 (ajustado)=80.789%.

Tabla 17

Análisis de Varianza para la variable respuesta: índice de germinación

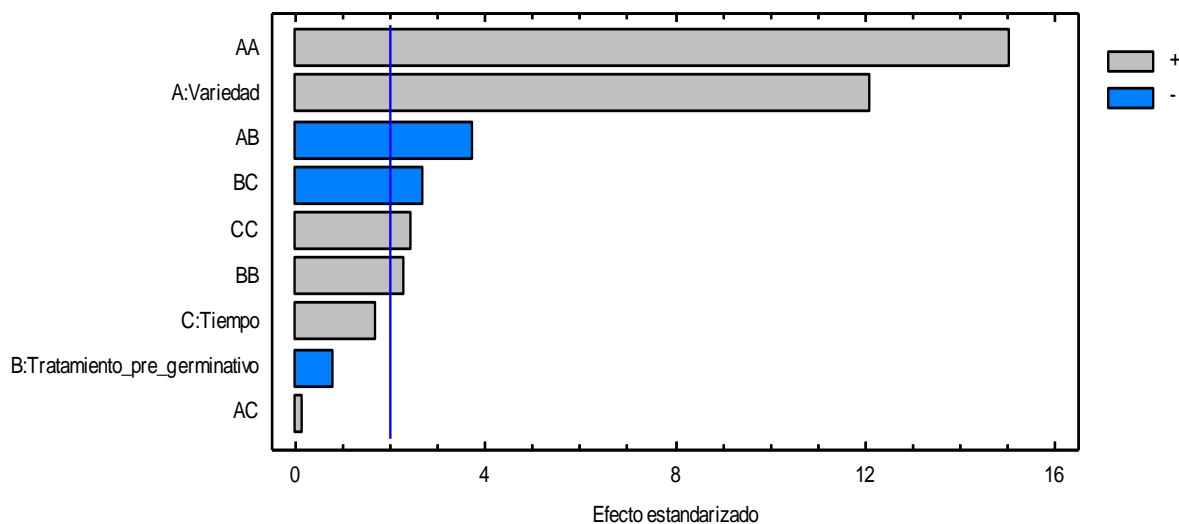
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Variedad	3706.17	1	3706.17	146.33	0
B:Tratamiento_pre_germinativo	16.2994	1	16.2994	0.64	0.4253
C:Tiempo	75.6973	1	75.6973	2.99	0.0886
AA	5708.9	1	5708.9	225.41	0
AB	360.282	1	360.282	14.23	0.0004
AC	0.65872	1	0.65872	0.03	0.8724
BB	132.861	1	132.861	5.25	0.0253
BC	186.964	1	186.964	7.38	0.0084
CC	153.602	1	153.602	6.06	0.0164
Error total	1646.24	65	25.3268		
Total (corr.)	9755.77	74			

Nota: $R^2=83.1255\%$; R^2 (Ajustado)=80.789%. Fuente: Elaboración propia (2016).

En la Figura 29, se muestra el diagrama de Pareto que permite observar de forma gráfica los diferentes términos que presentan efectos significativos sobre el modelo formulado para el índice de germinación.

Figura 29

Diagrama de Pareto estandarizada para el índice de germinación

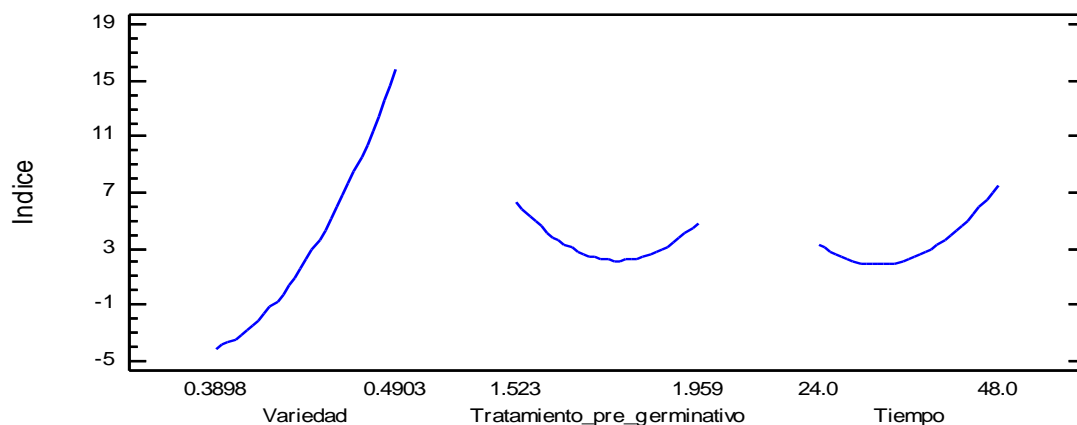


Fuente: Elaboración propia (2016).

La longitud de cada barra es proporcional al valor del estadístico-t calculado para el efecto correspondiente. En esta ocasión, se puede apreciar que existen seis barras más allá de la línea vertical, lo cual significa que, son estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Como puede observarse, el término cuadrático de la variedad fue el factor más importante en este modelo, seguido por el término lineal de la misma variable, la interacción entre la variedad y el tratamiento pre-germinativo, la interacción entre el tratamiento pre germinativo y el tiempo, y finalmente el término cuadrático del tratamiento pre-germinativo ($p < 0.05$). Por otra parte, los términos lineales del tratamiento pre-germinativo, tiempo y la temperatura no resultaron ser significativas ($p > 0.05$). Analizando la Figuras 29 y 30 puede establecerse que los términos cuadráticos de la variedad fue la variable más significativa en cuanto al índice de germinación, lo cual indica la presencia de curvatura en el modelo y con ello un posible máximo índice de germinación para ciertos valores de las variables analizadas.

Figura 30

Gráfico de efectos principales para el índice de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016).

Las líneas indican el cambio estimado en el índice de germinación conforme cada factor es movido de su nivel inferior (-) a su nivel superior (1) pasando por uno central (0). Notamos que, existen tres variables que ejercen notable influencia sobre el ponderado del índice de germinación, en tanto, la variable temperatura parece no afectar directamente en este factor, por lo cual no se muestra en el gráfico. Por ejemplo, el índice si se opta por la variedad Pasankalla ($\delta=0.3898$ g/ml) adopta un valor negativo, mientras cuando se emplea la variedad Blanca de Juli ($\delta=0.4903$ g/ml) es aproximadamente de 16.

4.2.3.1. Optimización de los factores estudiados sobre el índice de germinación.

Con base en los resultados obtenidos a partir del ANOVA y de los diagramas de Pareto correspondientes se observó como el índice de germinación puede ser ajustado mediante un modelo de superficie de respuesta. En la Ecuación 18 determina la combinación óptima de los factores que permiten maximizar, así como predecir el comportamiento del índice de germinación bajo el diseño Box-Behken.

$$\begin{aligned} \text{Indice} = & 243.285 - 797.425 A - 136.417 B + 0.516641 C + 1447.35 A^2 \\ & - 162.992 AB + 0.163618 AC + 70.8634 B^2 - 1.16964 BC \\ & + 0.0225481 C^2 \end{aligned} \quad (18)$$

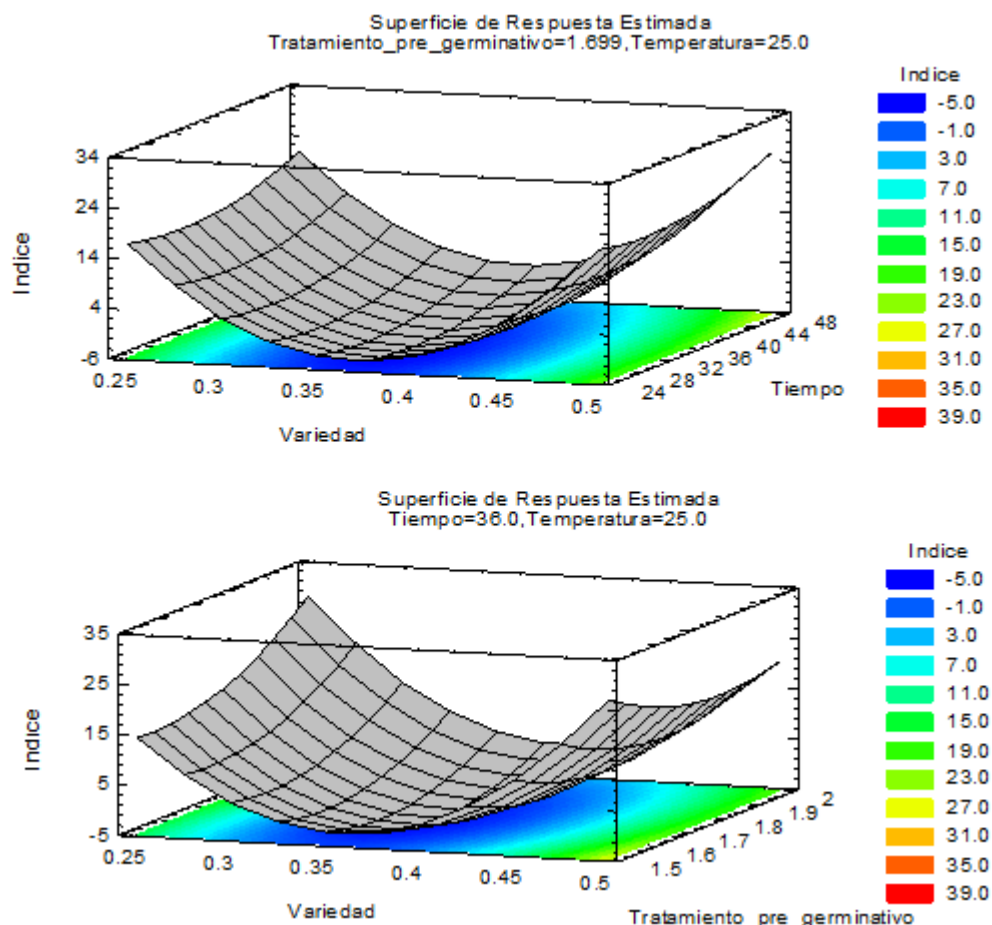
Dónde:

ARs : Azucares Reductores (mg/ml)
A : Variedad
B : Tratamiento pre-germinativo
C : Tiempo
D : Temperatura

Queda así establecido el polinomio de superficie de respuesta y su respectiva grafica (Figura 31) que permite obtener las condiciones de optimalidad para el índice de germinación. Del polinomio anterior se observa que las variables AB, BC Y BD actúan de manera sinérgica, provocando mejora de la función de utilidad a medida que aumentan sus valores dentro del dominio experimental. Se tomaron como ejes xy, las variables variedad y tratamiento pre-germinativo ya que la interacción de estas era significativa ($p < 0.05$). Dejando las otras dos variables: tiempo y temperatura constantes en sus niveles medios (0) de 36 horas y 25°C, respectivamente.

Figura 31

Superficie de respuesta para el índice de germinación. Interacción variedad y tiempo (Superior), interacción entre la variedad y el tratamiento pre-germinativo (Inferior)



Fuente: Elaboración propia (2016).

El gráfico de superficie de la Figura 31 devela como el índice de germinación se ve afectado por la interacción de factores como la variedad, tratamiento pre germinativo y el tiempo, los cuales son significativos ($p < 0.05$). Ambas muestran zonas con tonalidades azul-celestes, valores que son muy bajos o casi nulos. Para la gráfica de la parte superior e inferior, el índice de germinación se ve favorecido cuando la variable variedad es la Blanca de Juli ($\delta = 0.4903$ g/ml) para todos los valores del tiempo. Lo mismo ocurre con la variedad Negra Collana, mas no así con la Pasankalla, puesto que esta variedad presenta índices de germinación muy bajos. La Tabla 18 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza el índice sobre la región indicada.

Tabla 18*Diseño optimizado para el Índice de germinación*

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Variedad	0.2531	0.4903	0.4903
Tratamiento pre germinativo	1.523	1.959	1.523
Tiempo	24	48	48
Temperatura	20	30	25

Nota: Meta: maximizar índice de germinación, valor optimo= 30.232. Fuente: Elaboración propia (2016).

Mediante el uso del *software* se logró maximizar la respuesta dándonos un índice de germinación de 30.232, dicho se valor se alcanza si la variedad es la Blanca de Juli ($\delta=0.4903$ g/ml), con un tratamiento pre-germinativo de agua oxigenada (pH=1.523) con un tiempo de 48 horas a una temperatura de 25°C.

4.2.4. Velocidad de germinación

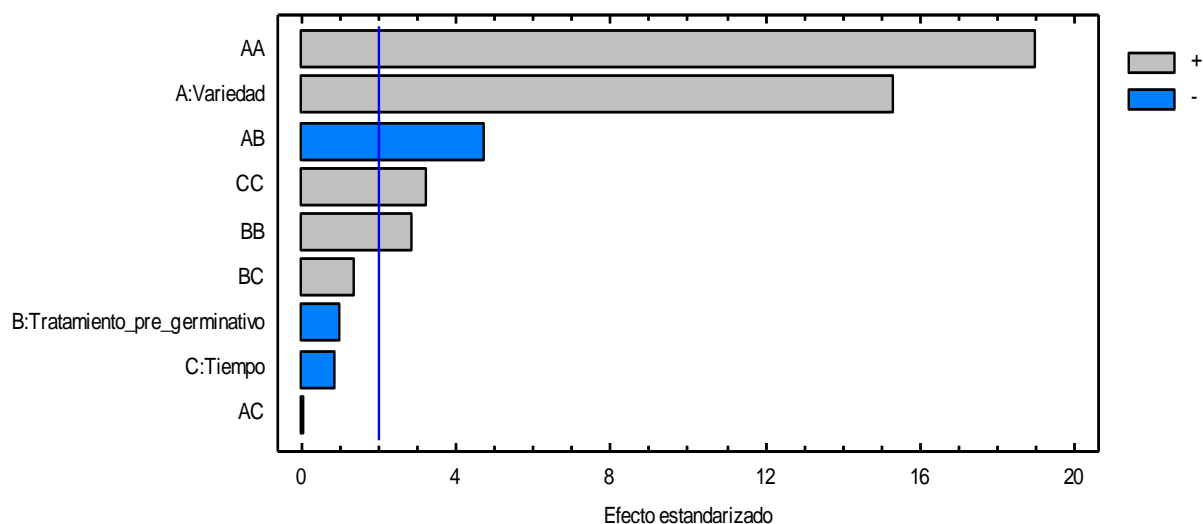
Se efectuó el análisis de varianza (ANOVA), con el que se precisa si existe relación significativa entre los factores y la velocidad de germinación (Tabla 19). Todos los efectos, ya sean términos lineales o cuadráticos e interacciones, que presentaron una probabilidad menor que 0.05 fueron significativos, es decir, la variedad (Lineal y cuadrática), la interacción de variedad y tratamiento pre-germinativo, los términos cuadráticos del tratamiento pre-germinativo y el tiempo respectivamente. El estadístico R^2 indica en un 87.9973 % la variabilidad del porcentaje de germinación y el R^2 (ajustado)=86.3354%.

Tabla 19*Análisis de Varianza para la variable respuesta: velocidad de germinación*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Variedad	1.39929	1	1.39929	234.32	0
B:Tratamiento_pre_germinativo	0.00623087	1	0.00623087	1.04	0.3108
C:Tiempo	0.00460856	1	0.00460856	0.77	0.3829
AA	2.15396	1	2.15396	360.69	0
AB	0.134227	1	0.134227	22.48	0
AC	3.6993E-05	1	3.6993E-05	0.01	0.9375
BB	0.049772	1	0.049772	8.33	0.0053
BC	0.0114269	1	0.0114269	1.91	0.1713
CC	0.0620745	1	0.0620745	10.39	0.002
Error total	0.388164	65	0.00597175		
Total (corr.)	3.23397	74			

Nota: $R^2=87.9973\%$; R^2 (Ajustado)= 86.3354% . Fuente: Elaboración propia (2016).

En el diagrama de Pareto (Figura 32), se representan los efectos estandarizados con $p=0.05$.

Figura 32*Diagrama de Pareto para la velocidad de germinación*

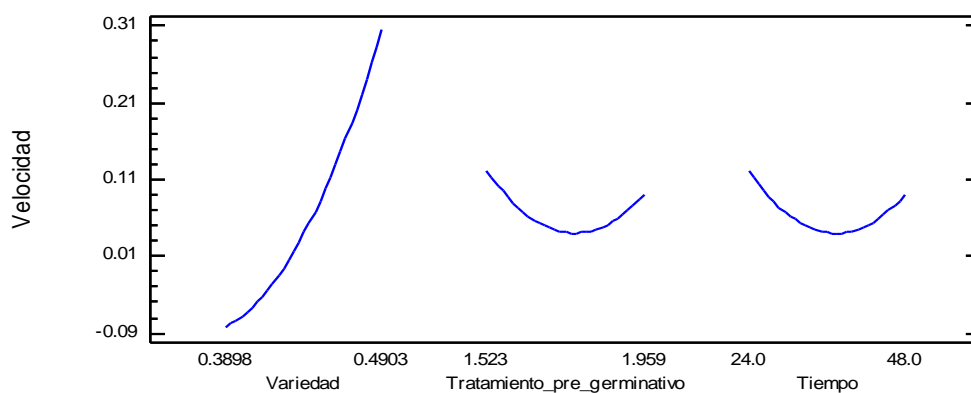
Fuente: Elaboración propia (2016)

La longitud de cada barra es proporcional al valor del estadístico-t calculado para el efecto correspondiente. En la Figura 32 se aprecia que son 5 barras las cuales pasan la línea vertical, mostrándose como los factores estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Donde, la variable temperatura no es tomada en cuenta para este análisis al no alcanzar significancia estadística ($p > 0.05$). El término cuadrático de la variedad nuevamente es el factor con mayor importancia en la velocidad de germinación, indicando la presencia de una curvatura en el modelo y con ello un posible máximo en el porcentaje para ciertos valores de las variables analizadas (Figura 33). El segundo factor destacable fue la variedad. El valor positivo de su coeficiente señala que el porcentaje de germinación asciende cuando la variedad toma valores de densidad altos. La interacción de la variedad y la aplicación de tratamientos pregerminativos se muestran como un tercer factor en orden de relevancia a la hora de influir sobre la velocidad de germinación, en este caso este factor presenta un coeficiente negativo por ende esto se interpreta que cuando el tratamiento pre germinativo asume valores bajos (-1) la influencia de la variedad es un factor importante, en cambio si el tratamiento químico asumiese valores altos (1) entonces la influencia de la variedad sería baja o nula.

Analizando la Figura 33 se nota claramente que la variedad destaca como factor influyente en la velocidad de germinación ($p < 0.05$). Por ejemplo, cuando la variedad toma valores bajos como el caso de la Pasankalla ($\delta = 0.3898$ g/ml) la velocidad de germinación desciende y llega a alcanzar valores negativos, por el otro lado si se emplean variedades con altas densidades como la Blanca de Juli entonces la velocidad también incrementa, llegando a 0.30 en promedio.

Figura 33

Gráfico de efectos principales para la velocidad de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016)

4.2.4.1. Optimización de los factores estudiados sobre la velocidad de germinación

Se obtiene así el polinomio de superficie de respuesta y su respectiva grafica que permite trazar las condiciones más adecuadas para maximizar la velocidad de germinación. De la Ecuación 19 se observa que las variables AB, AC Y BC interactúan, mejorando la función de utilidad a medida que aumentan sus valores dentro del dominio experimental. Además, los efectos cuadráticos permiten evaluar eventuales curvaturas que permitirán definir el campo óptimo, según se muestra en la gráfica de superficie de respuesta (Figura 34).

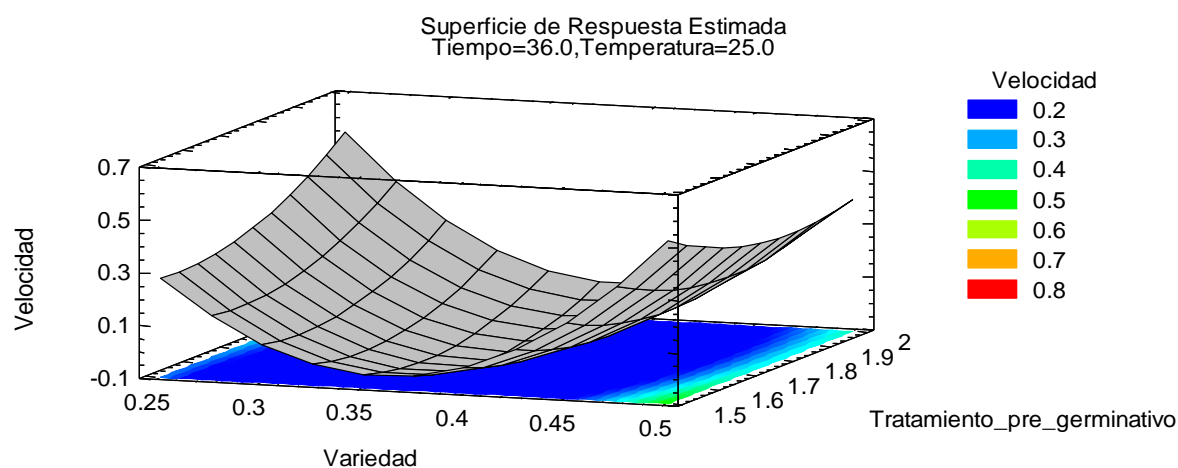
$$\begin{aligned} \text{Velocidad germinación} = & 6.84446 - 15.3642 A - 3.78903 B - 0.0493879 C + \\ & 28.1136 A^2 - 3.14605 AB - 0.00122615 AC + \\ & 1.37156 B^2 + 0.00914404 BC + \\ & 0.000453281 C^2 \end{aligned} \quad (19)$$

Dónde:

- ARs : Azucares Reductores (mg/ml)
- A : Variedad
- B : Tratamiento pre-germinativo
- C : Tiempo
- D : Temperatura

Figura 34

Superficie de respuesta para la velocidad de germinación



Fuente: Elaboración propia (2016)

Gracias al gráfico se superficie de la Figura 34 se interpreta que, las variedades estudiadas no presentan velocidades de germinación altas, siendo la variedad Blanca de Juli la que alcanza valores más altos (0.3-0.5) de entre sus pares, si es que se aplica el agua oxigenada como tratamiento químico. Finalmente, la Tabla 20 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza la velocidad de germinación sobre la región indicada.

Tabla 20

Diseño optimizado para la velocidad de germinación

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Variedad	0.2531	0.4903	0.4903
Tratamiento pre germinativo	1.523	1.959	1.523
Tiempo	24	48	24
Temperatura	20	30	25

Nota: Meta: maximizar velocidad de germinación, valor optimo= 0.5268. Fuente: Elaboración propia (2016).

Mediante el uso del software se logró maximizar la respuesta dándonos una velocidad de germinación de 0.53 dicho se valor se alcanza si la variedad es la Blanca de Juli ($\delta=0.4903$ g/ml), con un tratamiento pre-germinativo de agua oxigenada (pH=1.523) con un tiempo de 24 horas a una temperatura de 25°C. Optimizar la velocidad de germinación se justifica siendo

que este parámetro permite obtener mejores estimadores de vigor de las plántulas para ser utilizadas en programas de mejoramiento genético, ya que se ha demostrado que plántulas con mejor vigor poseen características aceptables de área foliar, peso seco y longitud de raíz. (Martínez et al., 2010).

Finalmente, en la Tabla 21 se recogen todos los datos obtenidos optimizados por cada variedad para esta investigación. En los cuatro casos se aprecia que tanto la variedad Blanca de Juli como el tratamiento con agua oxigenada resultaron ser los más adecuados. Si se desea optimizar los ARs y la velocidad de germinación entonces el tiempo óptimo es de 24 horas, mientras que el porcentaje e índice de germinación es 48 horas. La temperatura en tres casos fue de 25°C pero, en los azúcares reductores la temperatura optimizada fue de 23.34°C.

Tabla 21

Resultados finales de optimización para las cuatro variables respuesta

	Azúcares reductores (mg/ml)	Porcentaje de germinación (%)	Índice de germinación	velocidad de germinación
Variedad	0.4903	0.4903	0.4903	0.4903
Tratamiento pre germinativo	1.523	1.523	1.523	1.523
Tiempo	24.0233	48	48	24
Temperatura	23.3401	25.0403	25	25
Valor optimo	18.7598	72.1572	30.232	0.526768

Fuente: Elaboración propia (2016).

En la Tabla 22 se describen los resultados para cada variable respuesta usado en los resultados ya descritos por anterioridad. El porcentaje, el índice y la velocidad de germinación presenta valores nulos en aquellas corridas que fueron realizadas con la variedad Pasankalla, estas semillas no lograron germinar satisfactoriamente. Santana (2015) asegura que si existe una diferencia significativa entre el potencial hídrico del agua/materia prima entonces la germinación no se podrá llevar a cabo. Siendo que en nuestro estudio no se realizó dicho análisis entonces queda como un supuesto y como parte de estudios posteriores.

Tabla 22*Matriz de diseño Box Behken con las cuatro variables respuesta*

N°	Variedad	Trata - pre germinativo	Tiempo (horas)	Temp. (°C)	Azúcares reductores (mg/ml)	% de germinación	Índice de germinación	Velocidad de germinación
1	-1	-1	0	0	15.3588 ± 0.531	52 ± 4	18.72 ± 1.44	0.3611 ± 0.023
2	-1	1	0	0	3.0276 ± 0.198	41 ± 2.31	14.88 ± 0.831	0.2870 ± 0.016
3	1	-1	0	0	15.4213 ± 0.963	82.67 ± 12.85	29.76 ± .629	0.5741 ± 0.090
4	1	1	0	0	1.2161 ± 0.609	15 ± 2.309	5.28 ± 0.831	0.1019 ± 0.016
5	0	0	-1	-1	0.0417 ± 0.189	0	0	0
6	0	0	-1	1	0.1292 ± 2.984	0	0	0
7	0	0	1	-1	6.6383 ± 0.741	0	0	0
8	0	0	1	1	4.8767 ± 1.861	0	0	0
9	-1	0	0	-1	13.8721 ± 0.305	58.67 ± 4.619	21.12 ± 1.663	0.4074 ± 0.032
10	-1	0	0	1	3.5711 ± 0.394	56 ± 4	20.16 ± 1.44	0.3889 ± 0.027
11	1	0	0	-1	9.1495 ± 1.223	33.333 ± 2.31	12 ± 0.831	0.2315 ± 0.016
12	1	0	0	1	6.976 ± 1.120	26.67 ± 4.62	9.6 ± 1.663	0.1852 ± 0.032
13	0	-1	-1	0	14.5717 ± 0.456	0	0	0
14	0	-1	1	0	6.4134 ± 2.225	0	0	0
15	0	1	-1	0	2.6279 ± 0.717	0	0	0
16	0	1	1	0	6.1386 ± 1.668	0	0	0
17	-1	0	-1	0	25.8659 ± 0.418	57.333 ± .619	13.76 ± 1.109	0.5972 ± 0.048
18	-1	0	1	0	16.8455 ± 0.875	78.667 ± .110	37.76 ± 2.933	0.4097 ± 0.031
19	1	0	-1	0	7.7128 ± 0.228	46.67 ± 8.33	11.2 ± 1.999	0.4861 ± 0.087
20	1	0	1	0	6.7008 ± 2.830	64 ± 4	30.72 ± 1.92	0.3333 ± 0.021
21	0	-1	0	-1	0.4165 ± 0.312	0	0	0
22	0	-1	0	1	0.0417 ± 0.433	1.33 ± 2.31	0.48 ± 0.831	0.0093 ± 0.016
23	0	1	0	-1	2.3530 ± 0.541	0	0	0
24	0	1	0	1	2.6654 ± 1.579	1.33 ± 2.31	0.48 ± 0.831	0.0093 ± 0.016
25	0	0	0	0	4.2021 ± 0.057	0	0	0

Nota.

Resultados expresados en promedio ± Error Estándar (EE).

4.3. Etapa pos-germinación

4.3.1. Caracterización fisicoquímica de las semillas pre y pos-germinación

Durante la germinación de semillas están sufriendo muchas variantes en su composición fisicoquímica y biológica, por tal motivo se justifica el análisis pre y post germinación. Tras la elección de los parámetros de germinación más adecuados para cada variedad en función del porcentaje de germinación, se analizó el contenido de humedad (%), ceniza (%), proteína (%), grasa (%), fibra (%) y carbohidratos (%) (Tabla 17) de las semillas germinadas como de la materia prima. El contenido de cenizas en las tres variedades sufre una disminución significativa ($p < 0.05$). Pasa de 1.78, 2.03 y 2.30% a 0.66, 0.827 y 0.73% en la Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana respectivamente. Estas pérdidas se justifican debido a las pérdidas de lixiviación durante el remojo.

Las proteínas también experimentan un descenso en su contenido (Tabla 17) por acción de la germinación. Puede deberse al transporte de aminoácidos para el crecimiento de la radícula o por la pérdida durante la respiración, o esto podría resultar en la acumulación libre de aminoácidos en los cotiledones (Satyanarayana et al., 2011, p.106). Las proteínas se usan frecuentemente como sustratos de la respiración en las semillas sobre todo si están poseen grandes reservas de ellas. Además a lo largo de la germinación se producen juegos de enzimas en el interior de las semillas lo cual implica el uso de proteínas (Bidwell 1993, p.131). Además, existe un recambio de proteínas durante los primeros seis días de la germinación en las dicotiledóneas, eso implica la degradación de proteínas de reserva de la aleurona, para su reutilización de los aminoácidos en la síntesis de nuevas enzimas hidrolíticas (Barrón et al., 2009)

Para nuestro estudio, se muestra que el contenido de grasa disminuye en hasta un 60% por efecto de la germinación ($p < 0.05$) en las tres variedades. La variedad Blanca de Juli, Pasankalla y Negra Collana pasaron de tener 6.6%, 6.37 y 5.85% de lípidos a 2.16, 2.06 y 2.67% respectivamente. Este descenso se relaciona con la transformación de los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos por acción de las lipasas, los ácidos grasos a su vez pasan por el ciclo de la β - oxidación y genera acetil-CoA (Ribas et al., 20013, p. 274). Son necesarias dos moléculas de acetil-CoA para formar una de succinato por medio del ciclo del glioxilato, el succinato es el precursor de la sucrosa la cual después es convertida en glucosa (Bidwell, 1993, p. 135), la misma que es usada por la semilla como energía para el crecimiento de la plántula.

Así mismo, el contenido de carbohidratos se reduce en hasta un 54% aproximadamente ($p < 0.05$). Siendo la Blanca de Juli la que menores perdida soporta (47%), pasa de 62.44% a 29.71%, la Pasankalla de 63.2% a 31.24% y finalmente la Negra Collana de 63.87% a 34.98. Álvarez (2012, p.32) explica este fenómeno al afirmar que las amilasas desdoblan al almidón en azúcares simples, por lo que la cantidad de estos aumenta. Luego disminuye al ser consumidos por las partes vivas del grano, siendo estos cambios dependientes del proceso de germinación. Bravo (2013) en una investigación sobre germinación de quinua de la variedad Blanca de Junín, encontró valores similares a los encontrados en esta investigación. Donde los análisis proximales indicaron: una humedad de 10.17%, grasa 7.83%, cenizas 3.05%, proteínas 12.94% y fibra 4.58%.

Tabla 23

Análisis proximal (Base húmeda) de semillas de quinua de tres variedades: Blanca de Juli, Negra Collana y Pasankalla

Variedad		% Humedad	% Ceniza	% Proteína	% Grasa	% Fibra	% Carbohidratos
Blanca	SSN	10.8542 ± 0.081 ^c	1.783 ± 0.025 ^a	16.637 ± .115 ^e	6.6 ± 0.088 ^a	2.193 ± .015 ^c	62.44 ± 0.976 ^a
	SG	60.0467 ± 1.290 ^b	0.66 ± 0.026 ^b	6.52 ± 0.221 ^c	2.163 ± 0.066 ^b	0.893 ± .015 ^e	29.716 ± 0.976 ^b
Pasankalla	SSN	9.1232 ± 0.081 ^c	2.03 ± 0.026 ^c	16.823 ± .092 ^e	6.377 ± 0.025 ^c	2.75 ± 0.03 ^a	63.2 ± 0.132 ^a
	SG	59.445 ± 5.505 ^b	0.827 ± 0.006 ^d	5.48 ± 0.078 ^d	2.06 ± 0.043 ^d	0.94 ± 0.017 ^e	31.247 ± 5.486 ^b
Negra Collana	SSN	8.2381 ± 0.1604 ^c	2.303 ± 0.015 ^d	17.403 ± .115 ^a	5.85 ± 0.025 ^e	2.84 ± 0.025 ^b	63.866 ± 0.090 ^a
	SG	50.846 ± 0.396 ^a	0.73 ± 0.01 ^f	9.37 ± 0.156 ^b	2.67 ± 0.02 ^f	1.4 ± 0.017 ^d	34.983 ± 0.278 ^b

Nota. SSN= Semillas sin Germinar. SG= Semillas Germinadas. Resultados expresados en promedio ± Error Estándar (EE). *Promedios seguidos por la misma letra, dentro de cada columna, son iguales, según la prueba de Tukey a una $p < 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Fuente: Elaboración propia (2016).

La concentración de hierro presente en las tres variedades de quinua osciló en la Blanca de Juli de 3.8 mg/100 gr a 13.3 mg/100gr. Para la variedad Pasankalla los valores fueron de 4.5 a 16.233 mg/100 gr y por último en la variedad Negra Collana de 3.293 a 15.5 mg/100gr estos reportes son mayores a los encontrados por Chaparro et al.2011 que observó el efecto de la germinación sobre el contenido de minerales en quinua de la variedad Real, donde el hierro inicial fue de 6.84 mg/100gr y alcanzó un valor máximo de 7.62 mg/00gr a las 24 horas.

Tabla 24

Contenido de minerales: Hierro, Calcio y fosforo en semillas de quinua germinada (Base húmeda)

Variedad		Hierro (mg/100 gr)	Calcio (mg/100gr)	Fosforo (mg/100gr)
Blanca	SG	3.8 ± 0.005 ^{de}	136 ± 3.0005 ^d	271 ± 1.7320 ^d
	G	13.3 ± 0.173 ^a	150.33 ± 0.611 ^c	383.5 ± 0.624 ^b
Pasankalla	SG	4.5 ± .300 ^d	125 ± 3.0005 ^c	396 ± 1.7320 ^e
	G	16.233 ± 0.115 ^b	139.71 ± 0.518 ^d	398.2 ± 0.3 ^e
Negra Collana	SG	3.293 0.447 ^e	147.667 2.516 ^c	360.1667 1.041 ^c
	G	15.5 ± 0.3 ^c	166.7 ± 0.015 ^b	405.4 ± 0.360 ^a

Nota. Resultados expresados en promedio ± Error Estándar (EE). *Promedios seguidos por la misma letra, dentro de cada columna, son iguales, según la prueba de Tukey a una $p < 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Fuente: Elaboración propia (2016).

La disponibilidad de hierro en las semillas de quinua, pudo ser un antecedente para la formación de clorofila, evidente en algunas etapas del proceso germinativo, por tal motivo el incremento presenciado. Por otra parte, el contenido de calcio presente también sufrió incrementos significativos ($p < 0.05$) en las variedades en estudio. Una de las razones por la cual el calcio pudo estar más disponible en semillas de quinua durante el proceso germinativo, es consecuencia de la hidrólisis del complejo ácido fítico - calcio, debido a la acción de fitasas durante la germinación de las semillas (Chaparro et al., 2011). El contenido de fósforo también sufrió alteraciones producto de la germinación de las semillas. La blanca de Juli obtuvo valores significativos ($p < 0.05$) de 271 a 383.5 mg/100gr, mientras que la Pasankalla no obtuvo cambios significativos ($p < 0.05$) 396 a 398.2 mg/100gr

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

Las variables optimizadas fueron: variedad, tratamiento pre-germinativo, tiempo y temperatura, a través del diseño Box Behken. Con las variables respuestas: contenido de azúcares reductores (mg/ml), porcentaje, índice y velocidad de germinación. La variedad Blanca de Juli (densidad de 0.4903 g/ml) y el tratamiento con agua oxigenada presentaron mejores parámetros para las cuatro variables respuesta. Además, se obtuvo un valor optimizado de azúcares reductores de 18.7598 mg/ml cuando se empleó 24.02 horas a 23.3401°C. El porcentaje de germinación se maximizó hasta 72.1572% cuando se germina las semillas por 48 horas a 25.04°C. El índice de germinación fue de 30.232 cuando se empleó 48 horas de germinación a 25°C. La velocidad de germinación fue optimizada hasta 0.5267 con un tiempo de 24 horas a 25°C.

Como resultado del análisis fisicoquímico: humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos, calcio, hierro y fósforo de las semillas *pre* y *post* de germinación. Se concluye que, el proceso de germinación influye en la disminución del contenido de proteínas en base húmeda ($p < 0.05$) en las tres variedades: Blanca de Juli (de 16.637 a 6.52%), Pasankalla (de 16.823 a 5.48%) y Negra Collana (de 17.403 a 9.37%); el contenido graso ($p < 0.05$): Blanca de Juli (de 6.6 a 2.163%), Pasankalla (6.377 a 2.06%) y Negra Collana (5.85 a 2.67%). Sobre el contenido de carbohidratos ($p < 0.05$): Blanca de Juli (de 62.44 a 29.716%), Pasankalla (63.2 a 31.247%) y Negra Collana (de 63.866 a 34.983%); Sin embargo, la germinación presentó una influencia positiva en el contenido total de minerales como el Hierro ($p < 0.05$): Blanca de Juli (de 3.8 a 13.3 mg/100gr), Pasankalla (4.5 a 16.233 mg/100gr) y Negra Collana (3.293 a 15.5 mg/100gr), el calcio ($p < 0.05$): Blanca de Juli (136 a 150.33 mg/100gr), Pasankalla (125 a 139.71 mg/100gr) y Negra Collana (147.667 a 166.7 mg/100gr), y en el caso del fósforo el aumento fue significativo ($p < 0.05$): Blanca (de 271 a 383.5), Negra Collana (de 360.1667 a 405.4) y Pasankalla (de 396 a 398.2)

5.2. Recomendaciones

Una vez concluida la tesis se considera importante investigar sobre otros aspectos que conlleva la germinación de semillas y se propone:

- Realizar una evaluación de la germinación en la variedad Pasankalla a tiempos más prolongados mayores a 36 horas, puesto que en este estudio el tiempo evaluado no fue suficiente para alcanzar la germinación.
- Evaluar el poder germinativo de las semillas antes de someterlas germinación para así tener mayor fiabilidad en cuanto a la germinación de las semillas.

- Determinar el potencial hídrico de las semillas y del agua que se utiliza en el remojo, ya que contribuirá a la explicación de resultados
- Realizar el proceso de remojo a diferentes temperaturas, viendo que, a cada 10° C de incremento en la temperatura se ve que la imbibición se acelera.

6. Referencias

- Abugoch L. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*): composición, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in Food and nutrition research*, 58 (1), 1-31 pp.
- Agrobanco. (2012). Especial del cultivo de quinua. *Revista Técnica Agropecuaria*, 7(1), 4-7 pp.
Recuperado de: http://www.agrobanco.com.pe/pdf_cpc/RevistaAGROPECUARIA7.pdf
- Allauca V. (2005). Desarrollo de la tecnología de elaboración de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) germinado fresco para aumentar el valor nutritivo del grano (Tesis Doctor en bioquímica y farmacia). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Andrade X. (2010). Método para la obtención de germinados de habas (*Vicia faba*) y lentejas (*Lens esculenta*). Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2788/1/107410.2010.pdf>
- Apaza, V., Cáceres, G., Estrada, R., y Pinedo, R. (2013). Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. Recuperado de [www.fao.org / 3/a-as 890s.pdf](http://www.fao.org/3/a-as890s.pdf)
- Azcón, J., y Talón, M. (2003). Fundamentos de Fisiología Vegetal. *McGraw-Hill/Interamericana*. Barcelona, España. 522 p.
- Bamdad, F., Dokhani, Sh., Keramat, J., y Zareie, R. (2009). The Impact of Germination and In Vitro Digestion on the Formation of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides from Lentil Proteins Compared to Whey Proteins. *Revista World Academy of Science, Engineering and Technology*, 49(9), 36 -46 pp. Recuperado de: <http://www.waset.org/journals/waset/v49/v49-9.pdf>
- Barrón, M., Villanueva, C., García, M., y Colinas, M. (2009). Valor nutritivo y contenido de saponinas en germinados de Huazontle (*Chenopodium nuttalliae*), calabacita (*Cucúrbita pepo L.*), canola (*Brassica napus L.*) y amaranto (*Amarantus leucocarpus S.*). *Revista Chapingo: serie Horticultura*, 15(3), 237-243 pp. Recuperado de <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/609/60912186003.pdf>
- Bedón, M., Nolasco, O., Santa Cruz, C., Gutiérrez, A. (2013). Purificación parcial y caracterización de alfa amilasa de granos germinados de *Chenopodium quinoa* (Quinua). *Revista ECI Perú*, 10(1), 51-57 pp. Recuperado de: <http://www.encuentrocientificointernacional.org/revista/eci2013irevista/eci2013ieciiperuvolumen10numero1melissabedon.pdf>
- Bello, D., Carrera, E., y Díaz, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 40(2), 45-50 pp.

Recuperado

de:

[file:///C:/Users/CoordinadorAlimentos/Downloads/determinacion%20de%20azucarez%20reductores%20en%20ca%C3%B1a%20de%20azucar%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/CoordinadorAlimentos/Downloads/determinacion%20de%20azucarez%20reductores%20en%20ca%C3%B1a%20de%20azucar%20(1).pdf)

Bidwell, R. (1993). Fisiología vegetal (2^{da} ed.). México: A.G.T. Editor S.A.

Boletín del programa de investigación estratégica en Bolivia [PIEB]. (2010). La producción de quinua en Bolivia, sus componentes potenciales y riesgos, 7(14), 24-66 pp. Recuperado de: <http://200.105.158.146/UserFiles/File/PDFs/Temas14.pdf>

Bonner, F. (1985). Glosario de Términos sobre germinación de semillas para especialistas en árboles semilleros. New Orleans. *Department of Agriculture, Southern Forest Experiment Station*. http://www.srs.fs.usda.gov/pubs/gtr/qtr_so055.pdf

Bravo, M., Reyna, J., Gómez, I., y Huapaya, M. (2013). Estudio químico y nutricional de granos andinos germinados de quinua (*Chenopodium quinoa*) y kiwicha (*Amarantus caudatus*). *Revista Peruana de Química*, 16(1), 54-60 pp.

Canahua, A., y Mujica, A. (2013). QUINUA: pasado, presente y futuro. *Revista Agro Enfoque* 28(186), p.13. Recuperado de: <http://agroenf.com/2014/02/19/quinua-pasado-presente-y-futuro/>

Carvalho, N., y Nakagawa, J. (2000). *Sementes: Ciência, Tecnologia e produção*. Jaboticabal: Funep. 588 pp.

Castilho, F., Fontanari, G., Batistuti, J. (2008). Avaliação de algumas propriedades funcionais das farinhas de tremçoço doce (*Lupinus albus*) e feijão guandu (*Cajanus cajan (L) Millsp*) e sua utilização na produção de fiambre. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 10(1).

Chaparro, D., Pismag, R., y Elizalde, A. (2010). Efecto de la germinación sobre el contenido de hierro y calcio en amaranto, quinua, guandul y soya. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 9(1). Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612011000100007&script=sci_arttext&tlnq=en

Chaparro, D., Pismag, R., y Elizalde, A. (2009). Efecto de la germinación sobre el contenido y digestibilidad de proteína en semillas de amaranto, quinua, soya y guandul. *Revista Scielo Colombia*, 8(1), 35-42 pp. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a05.pdf>

Cira, L., Minor, H., Dublan, O., y Gracia, R. (2009). Effect of germination on the physicochemical properties of Canavalia (*Canavalia ensiformis*). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 54(1), 673-675 pp. Recuperado de: <http://www.waset.org/journals/waset/v54/v54-118.pdf>

Cueva, V., y Ledesma, S. (2000). Seminario de agro negocios: quinua. Universidad del Pacifico. Recuperado de

.http://www.up.edu.pe/carrera/administracion/SiteAssets/Lists/JER_Jerarquia/EditForm/14quina.pdf

- Da Silva, A., Medeiros, S., da Silva, F., Coelho E. 2002. Efeito do tamanho da semente, do substrato e pré-tratamento na germinação de sementes de pupunha. *Ciência agrônômica*, 33(1), 29-321 pp.
- Dávila, M., Sangronis, E., y Granito, M. (2003). Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de Nutrición*, 53(4), 348-354 pp Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222003000400003&script=sci_arttext&tlng=pt
- De la cuadra, C. (1993). Germinación, latencia y dormición de las semillas. *Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación*, 92(3), 1-24 pp. Recuperado de : http://www.marm.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf
- Díaz, M., Martín, A., Gonzales, A., Torres, V., y Noda, A. (2007). Biotransformación de *Vigna unguiculata* durante el proceso de germinación. *Revista cubana de ciencia Agrícola*, 41(2), 169-172 pp.
- Díaz, P., y Camacho, V. (2010). Evaluación de métodos de escarificación, sustratos y madures de semillas de palma Robelina (*Phoenix roebelenii*) para su germinación (Tesis de pregrado en Biología).Universidad Veracruzana, México. Recuperado de: <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/28576>
- Elizalde, A., Porrilla, Y., y Chaparro, D. (2009). Factores anti nutricionales en semillas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias* 7(1), 45-54 pp.
- Enríquez, E., Suzan, H., y Malda, G. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Taxodium mucronatum* (Ten) en el estado de Querétaro, México. *Agrociencia* 38(3), 375-381 pp.
- Faccini, D., y Puricelli, E. (2006). Efecto de la temperatura y de la luz sobre la germinación de *Nicotiana longiflora* Cavanilles y *Oenothera indecora* Camb. *Agriscientia* 23(1), 15-21 pp. Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/agrisc/v23n1/v23n1a03.pdf>
- Figueroa, M. (2006). Proyecto de pre factibilidad para la exportación de quinua orgánica al mercado norteamericano (tesis de grado de ingeniero en comercios exteriores e integración).Universidad tecnológica equinoccial, Ecuador. .Recuperado de http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/9570/1/27210_1.pdf
- Fonturbel, F. (2003). Problemática de la producción y comercialización de *Chenopodium quinoa* W., debida a la presencia de las saponinas. *Ciencia Abierta* 21(1), 1-10 pp. <http://cabierta.uchile.cl/revista/21/articulos/pdf/paper6.pdf>

- García, R., Gutiérrez, M., y Valenzuela, M. (2012). Fase fermentativa de la germinación de las semillas. *Universidad Complutense de Madrid*. Recuperado de: http://pendientedemigracion.ucm.es/info/cvicente/seminarios/germinacion_semillas.pdf
- García, V., Herrera, J., Aliaga. (1993). Efecto sobre la madurez de la semilla sobre la germinación y el vigor en semillas de china (*Impatiens balsamina L.*). *Revista de Agronomía Costarricense* 17(1), 81-87 pp.
- Gómez, M. (2004). Estimación de la capacidad germinativa y el vigor de las semillas de diomate (*Astronium graveolens jacq.*) sometidas a diferentes tratamientos y condiciones de almacenamiento. *Revista Scielo Colombia* 57 (1) ,1-14 pp. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v57n1/a06v57n1>
- Goyoaga, C. (2005). Estudio de factores no nutritivos en *vicia faba L.* influencia de la germinación sobre su valor nutritivo (Tesis de Doctorado en Farmacia). Universidad Complutense de Madrid, España. Recuperado de: <http://eprints.ucm.es/tesis/far/ucm-t28827.pdf>.
- Gracia, O., Aiello, C., Peña, M., Ruiz, J., y Acevedo, I. (2012). Caracterización físico-química y propiedades funcionales de la harina obtenida de granos de quinchoncho (*Cajanus cajan L.*) sometidos a diferentes procesamientos. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4), 919 -928 pp. Recuperado de: <http://www.bioline.org.br/pdf?cq12105>
- Hernández, R. (2007). Relaciones hídricas en las plantas. Venezuela: Botánica Online. Recuperado de: <http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/relahid/>
- Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E., y Jiménez, V. (2006). *Germinación y crecimiento de la planta* (vol. 4). San José, Costa Rica: Comisión Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Herrera, J., Lines, K., y Vásquez, W. (2000). Estudio de la germinación y la conservación de semillas de cedro María (*Calophyllum brasiliense*). *Revista Tecnología en Marcha* 19 (1), 61-72 pp. Recuperado de: <file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/Dialnet-EstudioDeLaGerminacionYLaConservacionDeSemillasDeC-4835736.pdf>
- Jancurová, M., Minarovicová, L., y Dandar, (2009). A. Quinoa –A review. *Czech J. Food Science* 27(2), 71-79 pp. Recuperado de: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/06732.pdf>
- Jeantet R., y Floury, J. (2006). Las transferencias, bases de las operaciones unitarias. En R. Jeantet, Th. Croguennec, P. Schuck, y G. Brulé, *Ciencia de los alimentos* (pp. 183-208). Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- Lascano, A. (2010). Estudio reológico de mezclas de harinas de cereales: cebada (*Hordeum vulgare*), maíz (*Zea mays*), quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), trigo (*Triticum vulgare*) y papa (*Solanum tuberosa*) nacionales con trigo importado para orientar su uso en la elaboración de pan y pastas alimenticias (Tesis de Ingeniero de Alimentos). Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

- Longo, S., Gomes, I., y Días, G. (1998). Factores externos ambientais que influenciam na germinação de sementes. Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais [IPEF]. Recuperado de: <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>
- López, N., Tique, M., y Pérez, L. (2010). Contribución al estudio del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para nutrición humana. *Perspectivas en nutrición humana* 13(1), 33-44 pp.
- Marassi, M. (2013). Germinación de semillas: cátedra de fisiología vegetal. Universidad Nacional del Nordeste [UNNE]. Recupera de: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/GuiadeestudioGerminacion.pdf>
- Marqués, B., Cesarino, F., Sader, R., y Domínguez, J. (2008). Germinação e armazenamento de sementes de coca (*Erythroxylum ligustrinum* DC. – Erythroxy). *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3), 25-29 pp. Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n3/04.pdf>
- Méndez, J.R., Merazo, J.F., y Montaña, N.J. (2008). Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de semillas de maíz (*Zea Mays* L.), carota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchocho (*Cajanus cajan* (L.) Mill.). *Revista UDO Agrícola*, 8 (1), 64
- Mendoza, H. (2005). Regulación de la germinación en semillas de cebada: interacción entre hormonas y azúcares. Universidad de Talca [UTALCA], Chile. Recuperado de: <http://biologia.utralca.cl/Seminarios/Seminario%20IBVB%20Hegaly%20Mendoza%2020-06-05.pdf>
- Ministerio del desarrollo e inclusión social [MIDIS]. (2013). Reporte Perú: Desnutrición crónica infantil. Dirección General de Políticas y Estrategias. Recuperado de: http://www.midis.gob.pe/images/direcciones/dgpye/reportes_peru.pdf
- Morales, A. (2008). Elaboración de fideos fritos enriquecidos con harina de quinua (*Chenopodium quinoa* W.) y espinaca (*Espinacia oleracea*) (Tesis de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Mujica, A., Canahua, A., y Saravia, R. (2007). Agronomía del cultivo de la Quinua. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. Recuperado de: <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/cap2.htm>
- Mujica, A., y Jacobsen, S. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. Bolivia, Ecuador: *Biodiversity and Economically Important Species in the Tropical Andes [BEISA]*. Recuperado de: <http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2027.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. 2011. La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Oficina Regional para

América Latina y el Caribe. Recuperado de:
http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinoa_es.pdf

Park, S., y Moritta, N. (2005). Dough and breadmaking properties of wheat flour substituted by 10% with germinated quinoa flour. *Food Science and Technology International* 11(6), 471- 476 pp. DOI: 10.1177/1082013205060766

Pérez, I., Gonzales, A., Molina, J., Ayala, O., y Peña, A. (2008). Efecto de desarrollo y secado de semillas de *Physalis ixocarpa* B. en germinación, vigor y contenido de azúcares. *Revista Interciencia* 33(10), 762 -767 pp. Recuperado de:
<http://www.scielo.org.ve/pdf/inci/v33n10/art11.pdf>

Perisse, P. (2011). Semillas. Ciencia y Técnica Administrativa [Cyta] S.A Recuperado de:
<http://www.semilla.cyta.com.ar/germinacion/germinacion.htm>

Porte, A., Freire, E., Dinis, V., Xavier, T., Maia, L. (2011). Propriedades funcionais tecnológicas das farinhas de sementes de mamão (*Carica papaya*) e de abobora (*Cucurbita sp.*). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 13(1), 91-96 pp.

Prego, I., Maldonado, S., y Otegui, M. (1998). Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany* ,82 (1) ,481-488 pp.

Ribas, M., Flórez, I., y González, M. (2013). *La respiración de las plantas*. Recuperado de:
<http://biblio3.url.edu.gt/Publi/Libros/2013/FisioVegetal/14.pdf>

Rodríguez, D. (1998). Cadena alimentaria. *Revista sobre procesamiento de alimentos a pequeña escala* 1(3), 1-24 pp.

Rolletschek, H., Stangelmayer, H., y Borisjuk, L. (2009). Methodology and Significance of Microsensor-based Oxygen Mapping in Plant Seeds – an Overview. *Sensors* 9(5), 3218-3227 pp. Recuperado de: http://www.mdpi.com/1424-8220/9/5/3218/htm#fig_body_display_f1-sensors-09-03218

Román, A., Ruiz, Y., Ramírez, V., y Vega, E. (2005). Optimización del proceso de remojo para la producción de malta producida en el estado de Hidalgo y Tlaxcala. Conferencia presentada

- en VII congreso de Ciencia de los Alimentos y III foro de Ciencias y Tecnología de Alimentos .Organizado por la Universidad Autónoma de Nuevo León .1 al 3 de junio. Guanajuato .mexico.7p.Recuperado de: <http://www.respyn.uanl.mx/vi/1/aldia/alimentos.html>
- Rubio, D., y Ureña, M. (2004). Disminución de viscosidad y aumento de densidad energética de mezcla de cereales extruidos por acción enzimática de harina de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) germinada. Universidad Nacional Agraria La Molina, editorial Agraria. 59-71 pp.
- Sánchez, F. (2013). Proyecto de factibilidad de inversión privada para la instalación de un semillero de quinua. *Sierra Exportadora*. Recuperado de: http://www.sierraexportadora.gob.pe/wp-content/uploads/biblioteca-virtual/Estudios%20de%20factibilidad/Proyecto_Semillero%20Quinoa.pdf
- Sangronis, E., Machado, C., y Cava, R. (2004). Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Caján Caján*) germinadas. *Revista Interciencia* 29(2), 80-85 pp. Recuperado de: http://www.interciencia.org/v29_02/sangronis.pdf
- Santana, G. (2015). Factores que influyen en la germinación de semillas. *Agrogiova*. Recuperado de: <https://agrogiova.wordpress.com/2015/12/07/estos-son-los-factores-que-influyen-en-la-germinacion-de-semillas/>
- Satyanarayana1. B., Subhashini, P., y Arundhati, A. (2011). Biochemical changes during seed germination of *Sterculia urens Roxb. Notulae Scientia Biologicae* 3 (3), 105-108 pp. Recuperado de: <file:///C:/Users/Lenovo/Downloads/6116-22996-1-PB.pdf>
- Serrano, J. (2000). Ciclo del glioxilato en el arquea halófilo *Haloferax volcanii*: análisis bioquímico, filogenético y transcripcional (Tesis de Doctorado en Biología). Universidad de Alicante, España. Recuperado de: <http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/4053/1/Serrano%20Gomicia,%20Juan%20Antonio.pdf>
- Sierra Exportadora. (2015). La quinua. . Foro sobres granos andinos. Gobierno del Perú. Recuperado de: <http://www.sierraexportadora.gob.pe/quinua/>
- Tapia, E. Editor. (2000). Cultivos andinos sub-explotados y su aporte a la alimentación. 2da Edición. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago.
- Tapia, M. (2014). La quinua: Historia distribución geográfica, actual producción y usos. *Revista Ambienta*. España <http://www.revistaambienta.es/WebAmbienta/marm/Dinamicas/secciones/articulos/quinua.htm>

- Tapia, M., Gandarillas, S., Cardozo, A., Mujica, A., Ortiz, R., Otazu, V., Rea, J., Salas, B., y Zanabria, E. (1979). *La quinua y la cañihua: cultivos andinos*. Colombia: Editorial del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas [IICA]. 230 pp. ISBN 0-88936-200-9
- Umaña, J., Álvarez, C., Lopera, S., y Gallardo, C. (2013). Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación de alimentos libres de gluten. *Universidad de Antioquia, Colombia*. Recuperado de: http://acta.org.co/acta_sites/alimentos hoy/index.php/hoy/article/viewFile/230/223
- Universidad Politécnica de Valencia [UPV]. (2003). Germinación de semillas. España. Recuperado de: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm#Madurez de las semillas
- Varela, S., y Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas; tratamientos germinativos. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*. Recuperado de: <http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/documentos/forestal/ecologia/serie%20tecnica/latencia.pdf>
- Willan, R. (1991). Guía para la manipulación de semillas forestales. *Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación* [FAO]. Recuperado de: <http://www.fao.org/DOCREP/006/AD232S/ad232s00.htm#TOC>

7. Anexos

Anexo 1: Preparación de reactivos y soluciones específicas

Preparación de reactivo DNS

Se pesaron 5 gr de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 150 gr de tartrato de Na-K lentamente. Se completa y 8 gr de NaOH. Se disuelve el NaOH en 200 ml de agua (d) se añade en agitación el tartrato de Na-K lentamente. Se completa con agua (d) hasta 400 ml y se comienza a añadir lentamente el ácido 3,5 dinitrosalicílico. Se deja en agitación toda la noche, se enrasa a 500 ml y se filtra.

Preparación de buffer fosfato alcalino 20mM mas NaCl 6.7 mM.

Para preparar buffer fosfato alcalino tanto que contenga 6,7 mM. Primero colocar en un vaso precipitado el fosfato de sodio monobásico más el cloruro de sodio (solución A), mantener en agitación, y poner un electrodo de pH calibrado en la solución. Poco a poco agregue la solución de fosfato de sodio di-básico más el cloruro de sodio (solución B) hasta que el pH se lea 6.9.

Para 1 litro de solución A se pesa 5.36 gr y 0.39 gr de NaCl

Para 1 litro de solución B se pesa 2.76 gr y 0.39 gr de NaCl

Anexo 2: Determinación de humedad: método de la estufa de aire 15ª edición A.O.A.C. 1990

Procedimiento

Efectuar el análisis en duplicado. Colocar la cápsula destapada y la tapa durante al menos 1 hora en la estufa a la temperatura de secado del producto. Empleando pinzas, trasladar la cápsula tapada al desecador y dejar enfriar durante 30 a 45 min. Pesar la cápsula con tapa con una aproximación de 0.1 mg. Registrar (m1). Pesar 5 g de muestra previamente homogeneizada. Registrar (m2). Colocar la muestra con cápsula destapada y la tapa en la estufa a la temperatura y tiempo recomendado 105 °C x 5 horas. Tapar la cápsula con la muestra, sacarla de la estufa, enfriar en desecador durante 30 a 45 min. Repetir el procedimiento de secado por una hora adicional, hasta que las variaciones entre dos pesadas sucesivas no excedan de 5 mg (m3).

Cálculo y expresión de resultados

La humedad del producto expresada en porcentaje es igual a:

$$\% \text{ Humedad} = (m2 - m3 / m2 - m1) \times 100$$

Donde:

m1 : masa de la cápsula vacía y de su tapa, en gramos

m2 : masa de la cápsula tapada con la muestra antes del secado, en gramos

m3 : masa de la cápsula con tapa más la muestra desecada, en gramos

Promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos decimales.

Anexo 3: Determinación de cenizas 15ª edición A.O.A.C. 1990

Procedimiento

Efectuar el análisis en duplicado. Pesar al 0.1 mg en una cápsula previamente calcinada y tarada (m0) 2 gramos de muestra homogeneizada (m1). Pre calcinar previamente la muestra en placa calefactora, evitando que se inflame, luego colocar en la mufla e incinerar a 550 °C por 8 horas, hasta cenizas blancas o grisáceas. Pre enfriar en la mufla apagada y si no se logran cenizas blancas o grisáceas, humedecerlas con agua destilada, secar en el baño de agua y someter nuevamente a incineración. Dejar enfriar en desecador y pesar (m2). Mezclar cuidadosa y completamente la muestra con la arena, mediante la varilla de vidrio.

Expresión de resultados

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{(m2 - m0)}{(m1 - m0)} \times 100$$

Donde:

m2 : masa en gramos de la cápsula con las cenizas

m1 : masa en gramos de la cápsula con la muestra

m0 : masa en gramos de la cápsula vacía

Anexo 4: Determinación de proteínas: método Kjeldhal 13ª edición A.O.A.C. 1984

Procedimiento

Realizar la muestra en duplicado. Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos. Pesar al 0.1 mg. alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl. Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico conc. Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Cuando la solución de hidróxido de sodio al 15 % adicionada de fenolftaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora debe ser cambiada (aprox. 3 análisis). Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. Más. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.

Enfriar y agregar 200 ml de agua. Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 ml de NAOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave. Destilar no menos de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en: a) 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.1 n, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Asegurar un exceso de H₂SO₄ para que se pueda realizar la retro-titulación. Titular el exceso de ácido con NAOH 0.1 n hasta color amarillo o b) 50 ml de ácido bórico al 3 %. titular con ácido clorhídrico 0.1 n hasta pH 4.6 mediante un medidor de pH calibrado con soluciones tampón pH 4 y pH 7, o en presencia del indicador de tashiro hasta pH 4.6 cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 ml de una solución de sulfato de amonio 0.1 n (6.6077 g/l), 100 ml de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de l(-)-tirosina. El contenido teórico en nitrógeno de este producto es de 7.73 %. Debe recuperarse un 99.7 %

Cálculo y expresión de resultados

$$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 1000}$$

Donde:

V : 50 ml H₂SO₄ 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N o gasto de HCl 0.1 N

M : masa de la muestra, en gramos

Factor

6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general, 5.7: para cereales y derivados de soya, 6.38: leche, 5.55: gelatina 5.95: arroz

Anexo 5: Determinación de materia grasa 13ª edición A.O.A.C. 1984

Fundamento

Una cantidad previamente homogeneizada y seca, medida o pesada del alimento se somete a una extracción con éter de petróleo o éter etílico, libre de peróxidos o mezcla de ambos. Posteriormente, se realiza la extracción total de la materia grasa libre por soxhlet.

Procedimiento

Preparación de la muestra: en muestras con mucha humedad homogeneizar y secar a 103+ °C en estufa de aire considerando el tipo de muestra. Moler y pasar por tamiz de malla de 1 mm. Pesar en duplicado 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Registrar m. secar el matraz de extracción por 30 min a 103+ 2°C. Pesar el matraz de extracción registrar m1. Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz. Extraer la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/seg. Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en rotavapor o baño María bajo campana. Hasta que no se detecte olor a éter. Secar el matraz con la grasa en estufa a 103+ 2°C por 10 min, enfriar en desecados y pesar. Registrar m2.

Cálculo y expresión de resultados

$$\% \text{ grasa cruda} = ((m2 - m1) / m) \times 100$$

Dónde:

M : Peso de la muestra m1 tara del matraz solo m2 peso matraz con grasa.

Anexo 6: Determinación de hierro en residuos calcinados

Fundamento

El hierro se determina por complexometría o titulación con EDTA en medio ácido con ácido sulfosalicílico-5 como indicador interno. Esta determinación es muy selectiva y permite desarrollarlo en presencia de otros elementos como el níquel, zinc, magnesio, cobalto y cobre.

Procedimiento

De la muestra calcinada en solución se utiliza 10 ml. Transvasándola a un vaso de 250 ml. Agregar al vaso aproximadamente 0.5 gr de peroxodisulfato de amonio. Hervir la solución, enfriar y luego agregar 2 ml de hidróxido de amonio 2N. Agregar agua desionizada hasta 50 ml. Agregar 1 ml del indicador. Titular con la solución EDTA 0.01 M hasta que desaparezca el color rojo.

Cálculos

Se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{mg de Fe total en la muestra} = \text{ml de EDTA} \times f \times 10 \times 0.559$$

$$\% \text{ Hierro} = \frac{\text{mg. de hierro} \times 100}{\text{mg de muestra inicial}}$$

Anexo 7: Determinación de calcio en residuos calcinados

Fundamento

El método de complexométrico da Buenos resultados con la determinación de calcio en muestras de residuos sólidos. La titulación se realiza con EDTA a pH 12 y usando como indicador ácido calcón carboxílico. La mayoría de los metales acompañantes precipitan, sin embargo, existen interferentes como hierro y magnesio, que son enmascarados por el agregado de trietanolamina.

Procedimiento

Para la determinación del calcio en la muestra, se toma de la solución obtenida luego de calcinar los residuos sólidos una alícuota de 10 ml con una pipeta volumétrica y colocarlo en un matraz de 250 ml. Agregar agua desionizada hasta completar 50 ml. Agregar la solución de hidróxido de sodio 2N hasta lograr un pH 12. Adicionar 1 a 2 puntas de espátula del indicador y 3 ml de solución de trietanolamina. Titular con solución EDTA 0.01 M hasta que el color vire del rojo vino inicial a un azul persistente.

Cálculos

Los mg de Ca se calculan a partir de la fórmula:

$$**mg de Ca = ml de EDTA x f x 10 x 0.4008**$$

$$\% Ca = \frac{mg de Ca}{mg de muestra} x 100$$

Anexo 8: Determinación de fosforo en residuos calcinados

Fundamento

El fosforo forma parte de un complejo de coloración azul en presencia de reactivos que incluyen molibdato de amonio, sulfato de 4-metil-aminofenol, ácido cítrico y sulfito de sodio, en medio sulfúrico, lo que permite su determinación espectrofotométrica.

Procedimiento

La solución obtenida luego de la calcinación de la muestra de residuos sólidos provee el material para la determinación del fosforo y otros elementos (hierro, boro, calcio y magnesio). Separar 0.2 ml de muestra de la solución referida anteriormente y verter en un tubo de ensayo. Agregar 4.8 ml de agua desionizada al mismo tubo. Agregar 1 ml de reactivo 1 y 1 ml de reactivo 2. Agitar, dejar reposar 30 minutos como mínimo para el desarrollo del color. Trasvasar la muestra preparada a las celdas del espectrofotómetro y medir la absorción en la banda de 720 nm. Contrastar la medición con un blanco que contiene todos los reactivos menos la muestra.

Cálculos

$$\%P = P_{id} \times 0.05$$

Donde: P_{id} = ugr de fosforo obtenida en la muestra de 0.2 ml

Anexo 9: Test de normalidad- Lilleford

A. Comprobación de normalidad de datos en el porcentaje de adsorción de agua (%HAD) para la variedad Blanca de Juli

Tests of Normality (últimos resultados)				
	N	max D	K-S - p	Lilliefors - p
%HAD_Blanca	36	0.130322	p > .20	p < .15

B. Comprobación de normalidad de datos en el porcentaje de adsorción de agua (%HAD) para la variedad Pasankalla

Tests of Normality (ultimos resultados)				
	N	max D	K-S - p	Lilliefors - p
%HAD_Pasankalla	36	0.113347	p > .20	p > .20

C. Comprobación de normalidad de datos en el porcentaje de adsorción de agua (%HAD) para la variedad Negra Collana

Tests of Normality (ultimos resultados)				
	N	max D	K-S - p	Lilliefors - p
%HAD_Negra	36	0.133195	p > .20	p < .15

Anexo 10: Fotos

Foto 1. Semillas germinadas de quinua de la variedad Blanca de Juli diferentes tratamientos

Nota. a) Variedad Blanca de Juli con H_2O_2 por 36 hs a $20^\circ C$. b) Variedad Blanca de Juli con H_2O_2 por 48 hs. a $25^\circ C$. c) Variedad Blanca de Juli con H_2O_2 por 48 hs a $25^\circ C$. d) Variedad Blanca de Juli con H_2SO_4 por 36 hs a $25^\circ C$

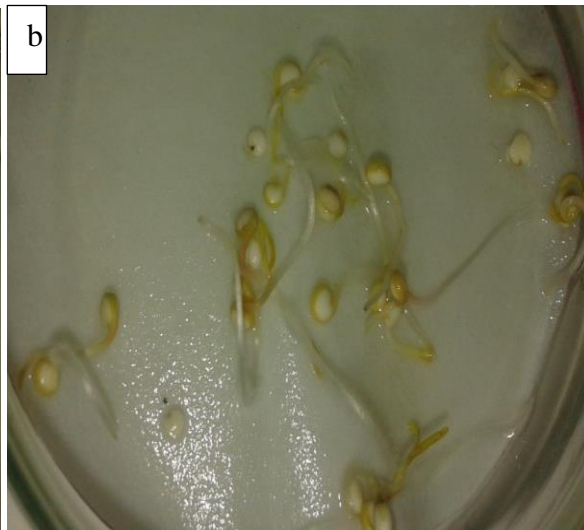


Foto 2. Semillas germinadas de quinua de las variedades: Pasankalla y Negra Collana

Nota. a) Variedad Negra Collana con H_2O_2 por 24 hs a $25^\circ C$. b) Variedad Negra Collana con HCl por 36 hs a $25^\circ C$ - c) Variedad Negra Collana con H_2SO_4 por 36 hs a $25^\circ C$. d) d Variedad Pasankalla con HCl por 36 horas a $25^\circ C$

