



Obtención de azúcares reductores (glucosa) a partir en granos de quinua (*Chenopodium quinoa*) usando hidrólisis enzimática, ácida y el metabolismo de la embriogénesis vegetal.

AMADOR ARZE, JUAN JOSÉ
CRESPO, CARLA F.
ÁLVAREZ A., TERESA¹

¹ Área de Biotecnología Industrial, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas "Luis Enrique Terrazas Siles", Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz Bolivia.

FECHA DE RECEPCIÓN: 18/02/2016

FECHA DE ACEPTACIÓN: 9/05/2016

Resumen

El trabajo se basa en la obtención y cuantificación de azúcares reductores (glucosa) libre y la obtenida, previo tratamiento del almidón (amilosa y amilopectina) presente en granos de Quinua Orgánica Real Blanca (*Chenopodium quinoa*), usando métodos como la hidrólisis con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones (0, 0.5, 1, 2 %), hidrólisis enzimática con Termamyl, AMG® y la embriogénesis vegetal cual al desarrollar la semilla se liberan enzimas intrínsecas que hidrolizan el almidón en glucosa, como método analítico de cuantificación de glucosa se utilizó HPLC. Se obtuvieron los rendimientos más altos de liberación de glucosa con el método de la hidrólisis ácida que fue alrededor de 127 %, seguido por una hidrólisis enzimática de 96.94 % y la embriogénesis vegetal con un rendimiento de 0.27 %.

Abstract

The work is based on obtaining and quantifying reducing sugars as free glucose through the pretreatment of starch (amylose and amylopectin) present in Blanca Real Organic Quinoa (*Chenopodium* sp) grains using methods such as hydrolysis with sulfuric acid at different concentrations (0, 0.5, 1, 2 %), and enzymatic hydrolysis with Termamyl, and AMG® enzymes, and developing plant seed embryogenesis intrinsic enzymes that hydrolyze the starch to glucose. As an analytical method of quantifying glucose released HPLC was used. Higher glucose release performances are obtained with the acid hydrolysis method which was around 100%, followed by an enzymatic hydrolysis to about 97 % and embryogenesis about to 0.27%.

PALABRAS CLAVE

Hidrólisis enzimática, azúcares reductores, Quinoa, Hidrólisis ácida

KEY WORDS

Enzymatic hydrolysis, reducing sugars, Quinoa, Acid hydrolysis

INTRODUCCIÓN

Para el siguiente estudio se usó la Quinoa Orgánica Real Blanca de nombre científico (*Chenopodium quinoa*), es un pseudocereal perteneciente a la subfamilia Chenopodioideae de las amarantáceas, es producido en países como Bolivia que es el primer productor a nivel mundial seguido de Perú y Estados Unidos y en otros lugares como Argentina, Chile, Colombia y Ecuador. En la región del altiplano boliviano, con un área sembrada, en el año 2013, de 104 000 hectáreas (Mujica, y col., 2001), la zona con mayor producción son los departamentos de La Paz, Potosí y Oruro. La tendencia en la producción de quinua es en aumento, según el Instituto Nacional de Estadística (INE Bolivia), pasó de 28.809 toneladas durante el año agrícola 2007-2008 a 38.257 toneladas en el año agrícola 2010-2011. Para el año agrícola 2011-2012 fue 42.267 toneladas y en el año agrícola 2012-2013 la producción alcanzó 58 mil toneladas, de las cuales se llegó a exportar 26.201 toneladas en 2012.

Esta planta crece a nivel del mar hasta los 4000 m de altura en la región de los Andes siendo más común su cultivo a una altura de 2500 m, esta planta se desarrolla anualmente, es dicotiledónea y normalmente alcanza una altura de 1 a 3 metros, las hojas son anchas y polimorfas (con diferentes formas en la misma planta); el tallo central comprende hojas lobuladas y quebradizas y puede tener ramas, dependiendo de la variedad o densidad del sembrado; las flores son pequeñas y carecen de pétalos, son hermafroditas y generalmente se auto fecundan. El fruto es seco y mide aproximadamente 2 mm de diámetro (de 250 a 500 semillas/g), rodeado por el cáliz, que es del mismo color que la planta (Mujica, y col. 2001).

La quinua posee compuestos orgánicos como la saponina que le otorga un sabor amargo característico, la cual puede ser eliminada a través de métodos mecánicos (pelado) y lavando de las semillas con bastante agua. También posee grasas, entre un 4 a 9 %, de los cuales la mitad contiene ácido linoleico; proteínas que llega a un 16 %, valor elevado con respecto a otras semillas donde puede llegar a contener hasta un 23 % más del doble que cualquier otro cereal y carbohidratos, fundamentalmente almidón, que es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de los vegetales el cual es parte de nuestro estudio; minerales como hierro 4.6 mg, magnesio 197 mg, fósforo 457 mg, potasio 463 mg, zinc 3.1 mg, agua 13 g, 370 Kcal esto por 100 g de quinua.

El almidón está constituido por Amilosa que está formada por α -D-glucopiranosas unidas por centenares o miles (normalmente de 300 a 3000 unidades de glucosa) mediante enlaces α -(1 - 4) en una cadena sin ramificar, o muy escasamente ramificada mediante enlaces α -(1 - 6) . Esta cadena adopta

una disposición helicoidal y tiene seis monómeros por cada vuelta de hélice. Suele constituir del 25 al 30 % del almidón y la Amilopectina que representa el 70-75 % restante. También está formada por α -D-glucopiranosas, aunque en este caso conforma una cadena altamente ramificada en la que hay uniones α -(1 - 4), como se indicó en el caso anterior, y muchos enlaces α -(1 - 6) que originan lugares de ramificación cada doce monómeros. Su peso molecular es muy elevado, ya que cada molécula suele reunir de 2.000 a 200.000 unidades de glucosa, de todos modos, la proporción entre estos dos componentes varía según la planta en el que se encuentre (Bello, y col. 1999: 29-33). La amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1 - 6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. Su peso molecular es muy alto ya que algunas fracciones llegan a alcanzar hasta 200 millones de daltones. La amilopectina constituye alrededor del 75% de los almidones más comunes. Algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina y son conocidos como céreos (Cana, 1978: 463-470).

Desde el punto de vista químico el almidón contienen regiones cristalinas y no cristalinas en capas alternadas, puesto que la cristalinidad es producida por el ordenamiento de las cadenas de amilopectina, los gránulos de almidón céreo tienen parecido grado de cristalinidad que los almidones normales por lo tanto tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal, en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, y es por tanto lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice, la mayoría de los almidones contienen alrededor del 25% de amilosa (Cana, 1978: 463-470).

El almidón contenido en el grano de quinua sufre un pretratamiento (hidrólisis) para así obtener moléculas simples de glucosa para su posterior cuantificación (Gott, y col. 2006: 35-45). Regularmente, el almidón es hidrolizado química y enzimáticamente. La hidrólisis enzimática utiliza Termamyl y AMG® que rompen enlaces del almidón (Holm, y col. 1986: 224-226) (Aman, y col. 1984: 135-1399) (Haslam, 2004: 1715-1734), como también lo muestran la importancia de un pretratamiento (Peroni, y col. 2008) y (Collares, y col. 2012). La hidrólisis química se basa en el uso de un ácido inorgánico importante para el pretratamiento y obtención de azúcares (Zhou, y col. 2014) y (Wang, y col. 2013), temperatura y presión lo cual romperá los enlaces del almidón obteniendo una hidrólisis completa (Badshah, y col. 2012: 262-269). Y la embriogénesis vegetal donde existe una liberación de glucosa producto de la hidrólisis enzimática del almidón, decir que es importante tomar en cuenta la concentración del almidón y la alfa amilasa (enzima) presente (Hanes, y col. 2004) y (Schwimmer, y col. 2006), principal carbohidrato de reserva, puede hidrolizarse mediante la acción de α -amilasas y β -amilasas, o por la almidón fosforilasa, liberándose monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. El embrión puede ejercer un control de las distintas actividades enzimáticas mediante la síntesis y liberación de fitohormonas. El ejemplo más típico de control hormonal es el de la hidrólisis de almidón por activación de las α -amilasas mediada por giberelinas en semillas de cereales.

Mientras que las giberelinas, y parece ser que también el etileno, tienen un claro efecto estimulador de la germinación, el ácido abscísico, por el contrario, inhibe los procesos relacionados con la germinación (Taiz, y col. 2006).

Para la obtención de glucosa usando métodos ya sean estos biológicos, físicos, químicos o fisicoquímicos se hidroliza almidón hasta llegar a un azúcar muy simple como es esta, la glucosa que es un monosacárido con fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$, una hexosa que contiene 6 átomos de carbono, una aldosa donde el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula (es un grupo aldehído). Es una forma de azúcar que se encuentra libre en las frutas y en la miel. Su rendimiento energético es de 3,75 kilocalorías por cada gramo en condiciones estándar. Es un isómero de la fructosa, con diferente posición relativa de los grupos $-OH$ y $=O$. La aldohexosa glucosa posee dos enantiómeros, si bien la D-glucosa es predominante en la naturaleza. (Devlin, 2006). En terminología de la industria alimentaria suele denominarse “dextrosa”, (término procedente de “glucosa dextro rotatoria”) a este compuesto.

Debido a que Bolivia es uno de los principales países productores y exportadores de quinua, existen diferentes categorizaciones del producto, entre ellas el producto exportable, el producto para mercado interno, el producto de baja calidad, el cual parcialmente es utilizado como alimento de ganado, pero una gran parte del mismo es desechado y acumulado en el ambiente. El mismo grano de baja calidad (granos de menor tamaño y con mayor contenido de saponina) puede constituir una alternativa para obtención de azúcares reductores ya que no es exportado, pudiendo darle un valor agregado, así obtener glucosa líquida o jarabe que actualmente se obtiene de otros cereales (maíz, trigo) y tubérculos como la papa o patata de manera industrial. Este producto tiene un amplio uso, como es el caso en la industria de alimentos en repostería y panadería que puede ser adecuado para los productos bajos en grasa como sustituto de la glicerina, añadiendo color y sabor durante la cocción, reduce el tiempo de elevación de la masa al facilitar la fermentación de la levadura, manteniendo o mejorando el sabor, la textura de los panes, reduce la temperatura, tiempo de cocción y la rotura de galletas y el pan. También suaviza y ayuda a conservar la humedad en sus productos, esta característica ayuda a aumentar considerablemente la vida útil y la calidad de los productos, se utiliza en las masas batidas y fermentadas como conservador, evita que los helados se cristalicen y se potencia su consistencia cremosa. También se utiliza como estabilizante en el proceso de producción de los helados, como lubricante de moldes para flanes, añadiéndole un poco de agua, para garantizar un mejor deslizamiento de los ingredientes, en la fermentación de azúcares reductores para la producción de alcohol (biocombustible, bebidas alcohólicas). En cuanto la industria farmacéutica es un ingrediente ideal para los jarabes para la tos, líquidos intravenosos basados de glucosa lo cual es más saludable debido a la facilidad para ser metabolizada y asimilada por el organismo, además de que provee energía instantánea. Debido a las propiedades físico-químicas del Jarabe Glucosa, además de la dulzura, baja toxicidad, alta pureza con que cuenta es muy popular en aplicaciones farmacéuticas como un edulcorante a granel se utiliza como excipientes en las diferentes formas de dosificación. Es posible reducir la cantidad de glicerina, sorbitol o glucosa líquida utilizada en productos farmacéuticos. Es altamente soluble

y las especificaciones del producto se pueden conservar durante largos períodos de tiempo, función higroscópica, es decir, tiene la capacidad de absorber o ceder humedad (Gil Hernández, 2010). En este sentido, el presente trabajo de investigación se estudiaron diversos métodos de hidrólisis de almidón de grano de quinua (*Chenopodium quinoa*) con la finalidad de obtener elevadas concentración de glucosa libre y ser usada así en futuras aplicaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestra y Preparación.

La muestra estudiada fue quinua orgánica real blanca (QORB) de la marca "Quinoa Real", producto orgánico envasado en el Brasil y certificada por las empresas Naturland y BOLICERT, provista por la empresa ANAPQUI (Asociación Nacional de Productores de Quinoa Bolivia), obtenida de un mercado local (La Paz, Bolivia).

Se tomo 500 g. de QORB (M1) la cual se desinfecto con hipoclorito de sodio al 70 %, se dejo reposar durante 10 minutos, se seco durante 24 horas en una estufa a 35 C. De (M1) se tomo 200 g, se pulverizo y se tamizo hasta obtener un polvo fino o harina de quinua de un diámetro aproximado de 0.8 mm (M2).

Determinación del contenido de almidón de QORB.

Se uso la técnica de Holm y col., (1986) modificado (9) para la determinación del contenido de almidón basado en una hidrólisis enzimática con Termamyl 120 L alfa amilasa termoestable. (Novo A/S, Copenhagen, Denmark), una hidrolasa que tiene la función de catalizar la reacción de hidrólisis de los enlaces (1 - 4) al digerir el almidón para formar azúcares simples como la glucosa, con una actividad enzimática a un pH entre 4.5 y 7. Además se uso una amiloglucosidasa comercial AMG® enzima obtenida a partir de *Aspergillus niger* (14 U/mg, 10 mg/ml en solución de sulfato de amonio 3.2 M, Boehringer Mannheim West Germany), la cual tiene la capacidad de hidrolizar tanto los enlaces α (1 - 4) como los α (1 - 6) de los glucanos; su acción prolongada puede causar la ruptura total de oligosacáridos, por lo que se emplea en la fabricación los jarabes de glucosa. Para la determinación de almidón en M2 se procedió con la licuefacción del mismo tomando 250 mg de M2 a la cual se añadió 15 ml de agua destilada y 100 μ l de alfa amilasa, se mezclo durante 5 minutos, luego se llevo a incubar a 100 C durante 15 minutos (mezclando cada 5 minutos), se enfrió la muestra a temperatura ambiente 15° C a 20° C bajo continua agitación. Se añadió 9,9 ml de agua destilada y se mezclo. En la segunda fase se llevo a cabo la sacarificación del almidón de la anterior mezcla en un tubo de ensayo con tapa rosca se toma 1 ml de muestra y se añadió 2 ml buffer acetato de sodio pH 4.75 y 50 μ l de AMG® y se llevo a incubación 60° C por 30 minutos (mezclando cada 5 minutos). Se dejo enfriar a temperatura ambiente de 15° C a 20° C, se centrifugo a 3000 g durante 10 minutos, almacenando el sobrenadante a -20° C. El análisis se llevo a cabo por duplicado con almidón soluble (estándar 1), maicena KRIS© (estándar 2), un Control 1 (solo enzima) y un control 2 (solo muestra y estándar).

Liberación de glucosa a partir de la QORB.

Pre tratamiento ácido del grano de quinua.

Para el pre tratamiento ácido del grano de quinua se uso la técnica de (Badshah, y col. 2012) modificada (Aman, y col. 1984: 135-139), se tomó 1,011 g de M2 (4,6 % en peso seco) para 200 ml de ácido sulfúrico a concentraciones de 0, 0,5, 1, 2 % en frascos de 500 ml con tapa rosca. Dicha mezcla se llevo a autoclave a 120° C durante 15 minutos.

Embriogénesis de la semilla de quinua.

Se uso la técnica de (Boero y cols., 1997) modificado (Hanes, 2004), se tomó 20 g de M1 en siete vasos de precipitado y se añadió 150 ml agua destilada incubando estas mezclas a 20° C; cada 0, 4, 8, 14, 16, 18, 24 horas se tomo cada vaso y se licuó para su posterior determinación de glucosa por HPLC.

Determinaciones Analíticas.

Determinación de sólidos totales (ST).

Para la determinación de (ST) se uso dos técnicas: el higrómetro, es un equipo que se utiliza para medir el grado de humedad del aire, otro gas o muestras solidas, el equipo utiliza sustancias químicas higroscópicas, las cuales absorben y exhalan la humedad. Para tal caso se peso 5 g de M2 (por triplicado).

La otra técnica involucra el uso de la mufla (horno que llega a una temperatura de 900° C) en tal caso se peso 10 g. de quinua y un crisol de porcelana por separado; se llevo a la mufla a 105° C durante 18 horas, pasado el tiempo se peso de nuevo. Se repitió el procedimiento hasta encontrar un peso constante; durante el proceso el agua se evapora, el peso inicial (crisol y muestra) disminuye y por diferencia de pesos se podrá determinar la humedad que tiene una muestra. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

$$\text{Peso total} = \text{Peso crisol} - (M1) \text{ o } (M2) + \text{peso agua (gramos)}$$

Cuantificación de Glucosa mediante HPLC.

Para cuantificar la glucosa obtenida usaremos HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia o High performance liquid chromatography). Para la curva de Calibración. Se uso como estándar glucosa (0.5, 1, 1.5, 2 g/L), se añadió 20 µl de ácido sulfúrico al 20 % a cada estándar el cual fue filtrado por una membrana de polipropileno de 0.45 µm de diámetro de poro previo al análisis.

Preparación de muestra se tomo 980 µl y se añadió 20 µl de ácido sulfúrico al 20 %, una vez mezclado se filtra por una membrana de polipropileno de 0.45 µm de diámetro de poro y se inyecta 100 µl de muestra o estándar al HPLC con un loop calibrado para el análisis de 20 µl de muestra. El HPLC de (marca

WATERS), constituido por una bomba binaria Waters 1525, una columna de la marca BIORAD (HPLC Organic Acid Analysis Column. Aminex HPX-87H Ion Exclusion Column 300 mm x 7.8 mm (Catalog 125-0140 Serial No. 436731) y un detector waters 2414 de índice de refracción. El método de separación cromatografía se caracterizo por una fase móvil de ácido sulfúrico 5mM, flujo de 0.6 ml/minuto a una temperatura interna de 50° C de detector, y una externa de 65° C de columna, a una presión de 918 a 941 psi. El tiempo de corrida de las muestras y el estándar tuvo una duración de 30 minutos, con los estándares se integro el área de pico y así se determino la concentración de glucosa.

Determinación teórica de almidón en QORB.

Para tal caso se uso la formula en base al trabajo realizado por Moshi y col., (2014) (20), la cual corresponde a:

$$\text{Almidón teórico total} = \frac{\text{mg Glucosa (HPLC)} * 3 * 0,9}{\text{mg Muestra seca}} * 100$$

Donde mg glucosa corresponde a la determinación por el HPLC, 3 es el factor de dilución, 0.9 es el factor hídrico de las hexosas, 100 es el porcentaje.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de sólidos totales (ST).

Como se puede observar en la tabla 1, cuando se uso el higrómetro y la mufla con M1 se obtuvo 91% de sólidos totales y 9 % correspondiente a humedad. En caso de M2 se obtuvo 92 % de sólidos totales donde la humedad alcanzo 8 %. No existió diferencia significativa entre ambos métodos considerando que según bibliografía la humedad de la quinua sin procesar esta entre el 9% al 13 %.

Tabla 1. Sólidos Totales (ST) de M1 y M2.

	(ST) Higrómetro (%)	DS	(ST) Mufla (%)	DS	(%)
M1	91	-0,23	91	-0,11	
	90	1,18	90	0,65	
	92	-1,04	91	-0,56	
Media	91		91		91
M2	93	-0,23	91	0,09	
	93	-0,6	91	0,33	
	91	0,81	91	-0,44	
Media	92		91		92

Hidrólisis Enzimática. Se procesouna concentración de 250 mg de la M2 y de estándares 1 y 2 y se obtuvo los siguientes datos como se observan en la tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de glucosa y almidón obtenido en la hidrólisis enzimática.

Muestra	Control	Glucosa (mg)	Concentración de Glucosa (mg glucosa/mg muestra)	Glucosa (%)	Almidón (%)	Rendimiento (%)
Quinua	1	1,0	42,4	84	50	97
	2	0,6				
Almidón	1	0,3	80,7	84	96	
	2	0,6				
Maicena	1	1,3	77,5	84	92	
	2	0,6				

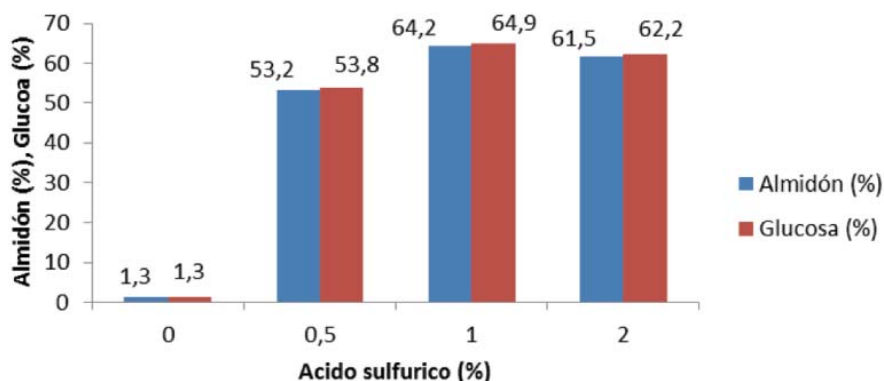
En el control 1 (cantidad de glucosa encontrada en el bulk enzimático) y control 2 (cantidad de glucosa libre en el sustrato) se encontró glucosa en pequeñas concentraciones, para poder determinar la concentración real de glucosa proveniente de la hidrólisis de almidón, se sustrae la cantidad de glucosa de los controles 1 y 2 a la cantidad de glucosa en M2 (glucosa proveniente de la hidrólisis de almidón). El rendimiento que se obtuvo por este método fue del 97 % considerando que el almidón en la quinua es de 52 g/100 g de muestra.

Hidrólisis Ácida. De una cantidad de 1011 mg de la M2 sometida a diferentes concentraciones de ácido (0, 0,5, 1 y 2%) se encontró los siguientes resultados como se observa en la tabla 3 y Fig. 1.

Tabla 3. Porcentaje de glucosa y almidón obtenida en la hidrólisis ácida a diferentes concentraciones.

Concentración de ácido sulfúrico (%)	0	0,5	1	2
Concentración de Glucosa (mg glucosa/ mg de M2)	13,6	543,6	656,3	629,0
Glucosa (%)	1	54	65	62
Almidón (%)	1	53	64	61
Rendimiento (%)	3	105	127	122

Figura 1. Hidrólisis ácida de M2.





Considerando que, la hidrólisis enzimática realizada en la sección 3.2.1 es específica para el almidón, se encontró un porcentaje total del mismo de 50.4%. Por tal motivo, se asume que este es el valor teórico de contenido de almidón y que los rendimientos estimados para cada concentración de ácido para la hidrólisis se basan en este ($\text{Rendimiento} = \frac{\text{Almidón}_{\text{ACIDA}} (\%)}{\text{Almidón}_{\text{ENZIMÁTICA}} (\%)} * 100$).

Producto de la hidrólisis ácida de la QORB, se obtuvo una mayor concentración de glucosa 656.3 mg a una concentración de ácido sulfúrico al 1 %, con un rendimiento de 127 %, lo que indica que en esta concentración de ácido sulfúrico es necesaria para una hidrólisis ácida total de almidón pero también pudo haber favorecido a la liberación de azúcares a partir de las fibras (celulosa y hemicelulosa que también contienen glucosa en su composición) mediante reacciones inespecíficas obteniendo así un rendimiento mayor al 100 %. Trabajos como el de (Badshah, y col. 2012) nos indica que la concentración de ácido sulfúrico al 1 % también es suficiente para hidrolizar el bagazo de la caña el cual es un material bastante resistente y complejo en su estructura.

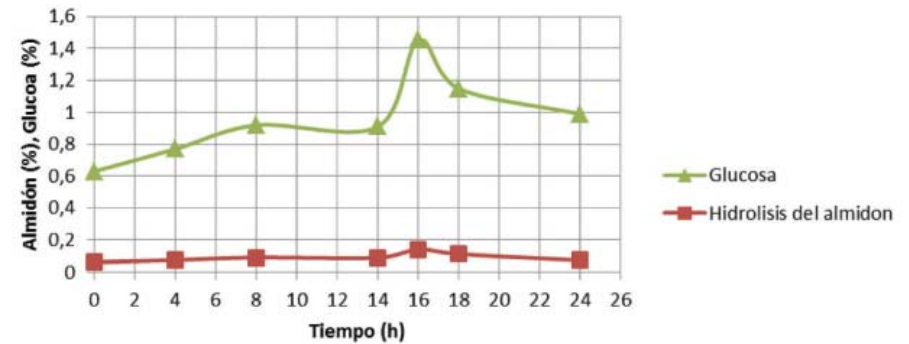
También se observó otros productos liberados por hidrólisis ácida del grao de quinua al 1% de ácido sulfúrico, entre ellos trazas de ácido láctico (475 mg), el cual pudo ser liberado a partir de la hidrólisis de fibras.

Proceso de embriogénesis de la semilla QORB. De una cantidad de 200g de (M1) la cantidad de glucosa liberada fue de 290.33 mg a las 16 horas, posteriormente fue disminuyendo hasta las 24 horas después de iniciado el proceso, como se observa en la tabla 4 y Figura 2.

Tabla 4. Porcentaje de glucosa y almidón en la embriogénesis vegetal.

Tiempo (Horas)	0	4	8	14	16	18	24
Cantidad de glucosa (mg M1)	127	154	185	182	290	230	199
Glucosa (%)	0,60	0,77	0,92	0,91	1,45	1,15	0,99
Almidón (%)	0,06	0,07	0,09	0,09	0,14	0,11	0,07
Rendimiento (%)	0,12	0,14	0,17	0,17	0,28	0,22	0,19

Figura 2. Curva liberación de Glucosa en el proceso de embriogénesis de la QORB.



Haciendo una comparación con las tres técnicas empleadas, podemos observar los resultados descritos en la tabla a continuación:

Tabla 5. Rendimiento de los tres métodos empleados.

Cantidad de QORB (mg)	mg Glucosa/ mg M1 y M2	Glucosa %	Almidón %	Rendimiento %
250	42,39	17	50,41	96,94
1011	656,3	65	64,2	127
200000	0,14	0,0007	0,142	0,27

En la determinación de los sólidos totales ambas técnicas nos dieron valores similares lo que no afectó para el desarrollo la técnica de la hidrólisis ácida. Se obtuvo un mayor rendimiento de obtención de glucosa en la hidrólisis ácida con un 127 %, seguido de una hidrólisis enzimática 97 % y la embriogénesis de la semilla de quinua donde el mayor rendimiento fue de 0,27 % a las 16 horas. Para optimizar una mayor cantidad de glucosa en un cereal como el caso de la quinua lo que se debe hacer es realizar una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 1 % para obtener un rendimiento mayor al 100 % por los factores ya mencionados anteriormente, el uso de técnicas en la hidrólisis del almidón es muy importante no solo de obtención de azúcares reductores a partir de cereales conocidos como es el caso del maíz, trigo, cebada, caña de azúcar también se podrá usar otras alternativas o cereales que no han sido estudiados aun y que se siembran en nuestro país también en mayores cantidades tal el caso de amaranto (*Amaranthuscaudatus*), cañahua o cañihua (*Chenopodiumpallidicaule*), sésamo (*Sesamunindicum*), tarwi (*Lupinusmutabilis*). A partir de los azúcares reductores liberados del grano de quinua, y considerando también que existe una fuente proteica disponible intrínseca del grano, se pueden producir compuestos de mayor valor agregado tales como el ácido láctico, etanol, biopolímeros como los bioplásticos a través de fermentaciones, utilizando quinua de baja calidad.

CONCLUSIONES

De los métodos que se usaron para la obtención de glucosa a partir de almidón en granos de quinua donde se obtuvo un mayor rendimiento fue con la hidrólisis de ácido sulfúrico al 1 %, a parte de obtener glucosa a partir del almidón se obtuvo de otras fuentes como son las fibras, celulosa y hemicelulosa produciéndose reacciones inespecíficas, lo que es importante así como por ejemplo la obtención de jarabe de glucosa con un mayor rendimiento superior al 100 %.

REFERENCIAS

- Aman, P., Hesselman, K., (1984). Analysis of Starch and other main constituents of cereal grains. Swedish J. agric, 14, 135-139.
- Badshah, M., Minh Lam, D., LIU, J., Mattiasson, B., (2012). Use of an automatic methane potential test system for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. Bioresource Technology, 114, 262-269.
- Bello, L.A., Paredes, O., (1999). El almidón: lo comemos, pero no lo conocemos. Perspectivas, 50 (3): 29-33.

- Boero, J., González, A., Prado, F., (1997). Germinación de diferentes variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) bajo distintas condiciones de salinidad y pH.
- Caná, A.Th. (1978). Structure of Starch Grains and the Classification of Vascular Plant Families. *Taxon*, 27(5-6): 463-470.
- Collares, R., Miklasevicius, L., Bassaco, M., Salau, N., Mazutti, M., Bisognin, Da., Terra, L., (2012). Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars.
- Devlin, T. M. (2006). Bioquímica, 4ª edición. Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4.
- El Día. (28 de mayo de 2013). Crece exportación de quinua 40 veces más que hace 10 años. Consultado el 10 de noviembre de 2014.
- Gil Hernández, A., (2010). Tratado de Nutrición. 2a ed. Tomo II: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Ed. Médica Panamericana. p. 228. ISBN 9788498353471.
- Gott, B., Barton, H., Samuel, D., Samuel, Torrence, R., (2006). Biology of starch. R. Torrence y H. Barton (eds.), *Ancient Starch Research*, pp. 35-45. LeftCoast-Press, California.
- Haslam, M., (2004). The Decomposition of Starch Grains in Soils: Implications for Archaeological Residue Analyses. *Journal of Archaeological Science*, 31 (12): 1715-1734.
- Holm, J., Björck, I., Drews, A., Asp, G., (1986). A rapid method for the analysis of starch. *Starch – Stärke*, 38 (7), 224-226.
- Http: //es.wikipedia.org/wiki/Chenopodium_quinoa, 2012. 14 de septiembre de 2014.
- Http: //www.m-w.com/dictionary/dextrose, 2010. 15 de septiembre de 2014.
- Http: //www.caribbeanliquidsugar.com, 2010. 15 de septiembre de 2014.
- Hanes, C. (2004). The effect of starch concentration upon the velocity of hydrolysis by the amylase of germinated barley.
- Instituto Nacional de Estadísticas. Agricultura, producción año agrícola según cultivos - cuadro 4010403. Consultado el 28 de septiembre de 2014.
- Los Tiempos. (27 de agosto de 2013). Bolivia: producción de quinua llega a 58 mil toneladas. Consultado el 27 de septiembre de 2013.
- Moshi, A., Crespo, C., Badshah, M., Hosea, K., Mshandete, A., Mattiasson, B., (2014). High bioethanol titre from *Manihot glaziovii* through fed-batch simultaneous saccharification and fermentation in Automatic Gas Potential Test System.
- Mujica, A., Canahua, A., Saravia, R., (2001) *Agronomía del cultivo de la quinua*; Jacobsen, J. Izquierdo & J.P. Marathe. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. FAO.
- Peroni, F., Koike, C., Louro, R., Purgatto, E., Do Nascimento, JR., Lajolo, Fm., Corde-nunci, Br., (2008). Mango starch degradation. II. The binding of alpha-amylase and beta-amylase to the starch granule.
- Taiz, Lincon, Zeiger, E., (2006). *Plant Physiology* (4ª edición). Sunderland, USA: Sinauer Associates, Inc. ISBN 978-0-87893-856-8.
- Wang, S., Copeland, L., (2013). Effect of Acid Hydrolysis on Starch Structure and Functionality: A Review.
- Zhou, S., Runge, T., (2014). Validation of lignocellulosic biomass carbohydrates determination via acid hydrolysis. Nov 4; 112: 179-85. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.05.088. Epub 2014 Jun 6.