UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA BIOLÓGICAS



"CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA, FUNCIONAL-TECNOLÓGICA Y SENSORIAL DE TRES VARIEDADES DE QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.)"

Presentada por:

JENNY DEL CARMEN VALDEZ ARANA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE *DOCTORIS PHILOSOPHIAE*EN CIENCIAS E INGENIERÍA BIOLÓGICAS

LIMA - PERÚ 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO DOCTORADO ENCIENCIAS E INGENIERÍA BIOLÓGICAS

"CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA, FUNCIONAL-TECNOLÓGICA Y SENSORIAL DE TRES VARIEDADES DE QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.)"

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTORIS PHILOSOPHIAE

JENNY DEL CARMEN VALDEZ ARANA

Sustentado y Aprobado ante el siguiente Jurado

Dr. Raúl Blas Sevillano PRESIDENTE	Ph.D. Ritva Ann Mari Repo do Carrasco ASESORA
Dra. Liliana Sumarriva Bustinza MIEMBRO EXTERNO	Ph.D. Gretty Villena Chávez MIEMBRO
Ph.D. Ilanit S MIEM	

COPIA DEL ACTA DE SUSTENTACIÓN

En esta página se presenta la calificación del Jurado evaluador.

DEDICATORIA

A mis hijos David Alejandro y Carmen Victoria

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ritva Repo de Carrasco por la oportunidad brindada en la investigación y por su asesoría y patrocionio en el desarrollo de la presente tesis.

Al Jurado integrado por el Dr. Raúl Blas Sevillano, Ph.D. Gretty Villena Chávez, Dra. Ilanit Samolski Klein y Dra. Liliana Sumarriva Bustinza por su apoyo y aportes en la revisión de la presente investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional y tiempo, que hicieron posible la realización de este trabajo.

A mi esposo David Chávez Muñoz por su apoyo invalorable en la instalación del Laboratorio de Inocuidad de Alimentos implementado con el Proyecto 141-FINCYT-IA-2013 donde se realizó esta investigación.

Al Ph.D. Marcel Gutiérrez-Correa† mi agradecimiento eterno por haber creido en mi persona como una candidata al Programa Doctoral y por sus enseñanzas y consejos.

A Yvette Ludeña Hinojosa, Inés Torres Arias, Joel Flores Ticona, María Eugenia Steffolani y Gabriela Teresa Pérez por su gran apoyo y tiempo.

A los jueces sensoriales entrenados por su valioso tiempo, compromiso y colaboración en la investigación.

La presente tesis ha sido elaborada con financiamiento provisto por el Proyecto de Investigación Aplicada con Contrato Nº 141-FINCyT-IA-2013 "Selección de ecotipos de quinua (*Chenopodium quinoa*) con mayor potencial nutricional, funcional, tecnológico, sensorial y menor contenido de saponinas, cultivados en costa y sierra", del Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONCYTEC del Perú, al Ministerio de Ciencia y Tecnología – MYNCYT de Argentina por el patrocinio en la movilidad en el marco de la investigación.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN
II.	REVISIÓN DE LITERATURA
2.1	LA QUINUA
2.1.1	Aspectos botánicos y producción
2.1.2	Composición química y usos
2.1.3	Saponinas en la quinua
2.2	EL ALMIDÓN EN LA QUINUA
2.2.1	Almidón: amilosa y amilopectina
2.2.2	Tamaño y forma del gránulo de almidón
2.2.3	Cristalinidad del almidón
2.2.4	Gelatinización y propiedades térmicas en DSC
2.2.5	Retrogradación del almidón
2.2.6	Gelatinización y propiedades de pegado en RVA
2.2.7	Sinérisis del almidón
2.2.8	Propiedades funcionales de los componentes de la quinua
2.3	LA EVALUACIÓN SENSORIAL EN LA PERCEPCIÓN DEL SABOR
2.3.1	Definición de la evaluación sensorial
2.3.2	Las pruebas sensoriales
2.3.3	Los seres humanos como instrumentos de medición
2.3.4	Fases de formación de un panel de jueces sensoriales entrenados
2.4	EL FLAVOR O SABOR EN LOS ALIMENTOS
2.4.1	El gusto en el flavor o sabor de los alimentos
2.4.2	Gusto o sabor amargo y sustancias amargas
2.5	ANATOMÍA DEL SENTIDO DEL SENTIDO GUSTO
2.5.1	Las papilas y células gustativas
2.5.2	Mecanismos de transmisión de las células gustativas hacia el cerebro
2.5.3	Receptores de las células gustativas del sabor amargo
2.5.4	Acceso del estímulo a los receptores del sabor amargo
2.5.5	Transducción de señales del sabor amargo
2.6	POLIMORFISMO INDIVIDUAL EN LA DIFERENCIA DE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO.
2.6.1	Evaluación del estado del catador de PROP (6-n-propiltiouracilo) y del poliomorfismo individual.

Muestras de células bucales para análisis del polimorfismo del ADN
El ácido nucleico: ADN
Extracción y purificación de ADN
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción
MATERIALES Y MÉTODOS
LUGAR DE EJECUCIÓN
MATERIALES
Materia prima
Materiales
Reactivos, medios de cultivo y alimentos
Equipos
MÉTODOS DE ANÁLISIS
Clasificación de los granos de quinua por grados de calidad
Determinación del contenido de saponina
Métodos de análisis proximal de los granos de quinua y almidones
Métodos de análisis microbiológicos
Rendimiento de almidón
Determinación del contenido de almidón
Determinación del contenido de amilosa y amilopectina
Análisis de la forma y tamaño de partícula del granulo de almidón
Determinación de patrones de difracción de Rayos X y cristalinidad
Propiedades térmicas mediante DSC (Calorimetría diferencial de barrido)
Propiedades de pegado mediante RVA (Rapid Visco Analyzer)
Capacidad de retención de agua (WHC)
Determinación de la firmeza y sinéresis de pastas de almidón
MÉTODOS PARA CONFORMACIÓN DEL PANEL DE JUECES ENTRENADOS
Entrenamiento de jueces sensoriales
Evaluación del desempeño.
PRUEBA DE EVALUACIÓN DEL SABOR AMARGO
MÉTODO DE EVALUACIÓN DEL ESTADO DEL CATADOR DE PROP (6-n-PROPILTIOURACILO)
EVALUACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TAS2R38 EN EL PANEL DE JUECES ENTRENADOS
Colecta de células bucales de panel de jueces entrenados

3.7.2	Pretratamiento de las muestras de enjuague bucal
3.7.3	Extracción del ADN Genómico con Wizard® genomic ADN purification kit
3.7.4	Evaluación del ADN
3.7.5	Amplificación de genes responsables del sabor amargo a través de PCR
3.7.6	Electroforesis de los productos de PCR en gel de agarosa
3.7.7	Evaluación del polimorfismo mediante RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción).
3.7.8	Electroforesis de los productos digeridos en gel de poliacrilamida
3.8	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL
3.8.1	Evaluación de propiedades físicoquímicas y funcional-tecnológicas
3.8.2	Evaluación de la calidad sensorial del sabor amargo
3.8.3	Evaluación del polimorfismo del Gen TAS2R38 en el panel de jueces entrenados.
3.9	PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN
4.1	CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIEDADES DE QUINUA
4.1.1	Clasificación por tamaño y por grados de calidad
4.1.2	Composición química y contenido de saponinas de las variedades de quinua (porcentaje)
4.1.3	Análisis microbiológico de las variedades de quinua
4.2	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE ALMIDONES DE QUINUA
4.3	CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA
4.4	DIFRACTOGRAMAS DE RAYOS X Y CRISTALINIDAD DE ALMIDONES DE QUINUA
4.5	PROPIEDADES TÉRMICAS DE LOS ALMIDONES MEDIANTE DSC
4.6	PROPIEDADES DE PEGADO DE LOS ALMIDONES MEDIANTE RVA
4.7	PROPIEDADES DE LOS GELES DE ALMIDÓN DE QUINUA
4.7.1	Capacidad de retención de agua.
4.7.2	Firmeza de los geles de almidón.
4.7.3	Sinéresis de los geles de almidón
4.8	ENTRENAMIENTO DE JUECES SENSORIALES EN SABOR AMARGO EN QUINUA
4.8.1	Resultados de la determinación del umbral de identificación
4.8.2	Resultados de la prueba de emparejamiento

4.8.3	Resultados de la prueba de comparación por parejas	12
4.8.4	Resultados de la prueba triangular	12
4.8.5	Resultados de la prueba de ordenamiento	12
4.8.6	Resultados del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada.	12
4.8.7	Resultados del entrenamiento final y evaluación del desempeño	12
4.9	EVALUACIÓN DEL SABOR AMARGO DE LAS VARIEDADE DE QUINUA	12
4.10	EVALUACIÓN DEL ESTADO DEL CATADOR DE PROP (6-n-PROPILTIOURACILO)	13
4.11	EVALUACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TAS2R38 EN EL PANEL DE JUECES ENTRENADOS MEDIANTE PCR-RFLP	1.
4.11.1	Colecta de células bucales, extracción y evaluación de ADN Genómico	13
4.11.2	Amplificación de genes responsables del sabor amargo mediante PCR	13
4.11.3	Resultados de la evaluación del polimorfismo mediante RFLP	14
V.	CONCLUSIONES.	14
VI.	RECOMENDACIONES	14
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	14
VIII.	ANEXOS	1′

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Variedades y ecotipos de quinua cultivadas en los andes		
Tabla 2:	Composición de carbohidratos en granos de quinua y cereales (porcentaje en base seca)		
Tabla 3:	Almidón en granos andinos y cereales comunes		
Tabla 4:	Propiedades térmicas de almidones de granos andinos y cereales		
Tabla 5:	Propiedades de pegado o gel de almidones de cereales		
Tabla 6:	Propiedades funcionales de la harina y almidón de quinua		
Tabla 7:	Sustancias amargas en alimentos y umbrales de detección		
Tabla 8:	Fitonutrientes amargos en frutas y verduras		
Tabla 9:	Papilas gustativas humanas		
Tabla 10:	Células de los botones de las papilas gustativas		
Tabla 11:	Identificación de 58 compuestos amargos naturales por genes hTAS2Rs		
Tabla 12:	Identificación de 46 compuestos amargos artificiales por genes hTAS2Rs		
Tabla 13:	Master mix para PCR con 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut		
Tabla 14:	Condiciones de amplificación para la PCR con cebadores 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut		
Tabla 15:	Master Mix para PCR-RFLP para 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut		
Tabla 16:	Diseño experimental de la evaluación de propiedades físicoquímicas y funcional-tecnológicas		
Tabla 17:	Diseño experimental de la determinación de la calidad sensorial		
Tabla 18:	Diseño experimental de la evaluación del polimorfismo del gen. TAS2R38 en el panel de jueces entrenados		
Tabla 19:	Grados de calidad de los granos de las tres variedades de quinua		
Tabla 20:	Composición química de las tres variedades de quinua (porcentaje)		
Tabla 21:	Resultados del análisis microbiológico de las tres variedades de quinua		
Tabla 22:	Composición química, rendimiento, tamaño y cristalinidad del almidón de las tres variedades de quinua		
Tabla 23:	Propiedades térmicas de los almidones de quinua en DSC		
Tabla 24:	Propiedades de pegado de los almidones de quinua en RVA		
Tabla 25:	Propiedades de los geles de almidón de quinua		
Tabla 26:	Umbral de identificación de los jueces sensoriales		

Tabla 27:	Resultados del entrenamiento en pruebas discriminativas (porcentaje de aciertos)		
Tabla 28:	Resultados grupales del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada empleando figuras geométricas (I, II y III)		
Tabla 29:	Resultados de la evaluación del supuesto de normalidad		
Tabla 30:	Resultados de la homogeneidad de jueces a través del coeficiente de concordancia de Kendall.		
Tabla 31:	Resultados del entrenamiento en la intensidad del sabor amargo en muestras de referencia de granos de quinua		
Tabla 32:	Evaluación del supuesto de normalidad en muestras de referencia de quinua.		
Tabla 33:	Coeficiente de concordancia de Kendall en la evaluación de muestras de referencia.		
Tabla 34:	Resultados del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada con muestras de referencia de granos de quinua		
Tabla 35:	Supuesto de normalidad y coeficiente de kendall (W) en la evaluación de muestras de referencia de quinua		
Tabla 36:	Intensidad del sabor amargo y contenido de saponinas de las muestras de quinua		
Tabla 37:	Supuesto de normalidad y coeficiente de concordancia de Kendall (W) en la evaluación de variedades de quinua		
Tabla 38:	Resultados de la prueba de signos de la mediana en las variedades de quinua		
Tabla 39:	Intensidad de sabor promedio a NaCl y PROP de la evaluación del catador PROP.		
Tabla 40:	Evaluación del supuesto de normalidad en la intensidad del sabor de las soluciones NaCl y PROP		
Tabla 41:	Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para la intensidad del sabor de las soluciones NaCl y PROP		
Tabla 42:	Resultados de la concentración y pureza del ADN genómico		

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Partes del grano de la quinua
Figura 2:	Estructura molecular del gránulo de almidón
Figura 3:	Amilopectina - Cadenas A, B y C
Figura 4:	Micrografía de barrido electrónico del almidón de quinua (10000 x ampliación).
Figura 5:	Diagramas de difracción de rayos X de almidones tipo A y B
Figura 6:	Termograma DSC de cereales, tubérculos y leguminosas
Figura 7:	Termograma DSC del almidón de quinua
Figura 8:	Curva típica y parámetros de pegado dl almidón medido con RVA
Figura 9:	Esquema de los componentes anatómicos del flavor o "sabor"
Figura 10:	Esquema dela estructura AH/B/X de los compuestos amargos
Figura 11:	Papilas gustativas humanas, distribución y corte transversal
Figura 12:	Conexión de células de los botones de las papilas gustativas al cerebro
Figura 13:	Dendograma de la relación de la familia de genes TAS2R en el ser humano
Figura 14:	Cascada de transducción de señales del sabor amargo
Figura 15:	Secuencia completa y SNPs del gen PTC (Feniltiocarbamida) del TAS2R38.
Figura 16:	Mutagénesis del gen TAS2R38 que forma sitios de restricción para las enzimas <i>Hae</i> III, <i>Eco</i> 47III y <i>Rsa</i> I para los alelos de catador y super catador
Figura 17:	Micrografías de microscopia electrónica de barrido (SEM) de los almidones de quinua (50.00 kX de amplificación)
Figura 18:	Difractogramas de rayos X de los almidones de quinua
Figura 19:	Termograma DSC del almidón quinua Blanca de Hualhuas (BH)
Figura 20:	Termograma DSC del almidón de quinua Rosada de Huancayo (RHY)
Figura 21:	Termograma DSC del almidón de quinua Pasankalla (PK)
Figura 22:	Termograma DSC de los almidones de quinua
Figura 23:	Viscograma RVA de los almidones de quinua
Figura 24:	Umbral de identificación de los jueces sensoriales
Figura 25:	Clasificación de jueces sensoriales como catadores medio o moderado PROP

Figura 26:	Electroforesis de la calidad e integridad del ADN en gel de agarosa	138
Figura 27:	Amplificación de productos de PCR del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor TAS2R38	139
Figura 28:	Amplificación de productos de PCR de los SNPs en las posiciones 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del receptor TAS2R38	140
Figura 29:	Electroforesis de productos de PCR y de fragmentos RFLP del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor TAS2R38	141
Figura 30:	Electroforesis de productos de PCR y de fragmentos RFLP de los SNPs en las posiciones 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del receptor TAS2R38	142

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1:	Candidatos seleccionados para la conformación del panel de jueces entrenados				
Anexo 2:	Determinación del umbral de identificación				
Anexo 3:	Prueba de emparejamiento				
Anexo 4:	Prueba de comparación por parejas				
Anexo 5:	Prueba triangular				
Anexo 6:	Prueba de ordenamiento				
Anexo 7:	Entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada				
Anexo 8:	Evaluación del estado del catador de PROP (6-n-propiltiouracilo)				
Anexo 9:	Analisis estadístico de la composición química de las variedades de quinua.				
Anexo 10:	Analisis estadístico de la composición química, rendimiento, tamaño y cristalinidad de los almidones de quinua				
Anexo 11:	Analisis estadístico de las propiedades térmicas de los almidones de quinua.				
Anexo 12:	Analisis estadístico de las propiedades de pegado o gel de los almidones de quinua				
Anexo 13:	Analisis estadístico de las propiedades de los geles de almidones de quinua				
Anexo 14:	Resultados de la prueba de emparejamiento				
Anexo 15:	Resultados de la prueba de comparación por parejas				
Anexo 16:	Resultados de la prueba triangular				
Anexo 17:	Resultados de la prueba de ordenamiento				
Anexo 18:	Resultados del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada empleando figuras geométricas				
Anexo 19:	Resultados del entrenamiento final				
Anexo 20:	Resultados del entrenamiento final en el uso de la escala lineal no estructurada empleando muestras de referencia				
Anexo 21:	Resultados de la evaluación del desempeño en el uso de la escala lineal no estructurada para la intensidad del sabor amargo				
Anexo 22:	Resultados de la evaluación de la intensidad del sabor amargo en las variedadede quinua				
Anexo 23:	Evaluación del catador PROP.				
Anexo 24:	Analisis estadístico del contenido de ADN genómico en células bucales				
Anexo 25	Factores de correlación entre las propiedades de los almidones de quinua				

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue realizar la caracterización fisicoquímica y funcionaltecnológica de tres variedades de quinua peruana provenientes de la Región Junín: Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY) y Pasankalla (PK), con el fin de establecer sus posibles usos en alimentos a base de cereales u almidones. Los granos de las tres variedades presentaron grado 1 de calidad, tamaño de grano grande y microbiológicamente cumplieron la normativa nacional. Las harinas y almidones mostraron diferencias en la composición química. Los almidones presentaron patrones de cristalinidad XRD tipo A, forma poligonal, tamaño pequeño, alta cristalinidad y bajo contenido de amilosa. Las propiedades térmicas, de pegado y de geles de los almidones, mostraron diferencias. El almidón PK, con menor amilosa, presentó menores temperaturas de transición; el almidón BH, con mayor amilosa, presentó la menor entalpía de gelatinización. El almidón PK mostró menores: tiempo máximo, viscosidad de restitución (SB) y sinérisis con correlación positiva al contenido de amilosa; asimismo presentó mayores: viscosidad máxima (PV), de ruptura (BD), capacidad de retención de agua y firmeza con correlación negativa al contenido de amilosa. Las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y funcional-tecnológicas de los almidones sugieren varios usos posibles en la industria alimentaria. Por otro lado se realizó el entrenamiento de jueces sensoriales y se obtuvo la calidad sensorial del sabor amargo para quinua BH (débil-1,8 cm), RHY (muy débil-0,8 cm) y PK (ausente-0 cm); diferencia atribuible al contenido de saponinas. La evaluación de las diferencias genéticas entre jueces sensoriales entrenados permitió calificarlos genética y sensorialmente como catadores medio PROP con habilidad sensorial en la percepción del sabor amargo utilizando la evaluación del polimorfismo del nucleótido (SNP) en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor del sabor amargo TAS2R38 empleando PCR-RFLP y también mediante la clasificación sensorial de catador PROP.

Palabras claves: Almidón de quinua, amilosa, propiedades térmicas y pegado, panel entrenado, sabor amargo, polimorfismo del gen TAS2R38.

ABSTRACT

The objective of the investigation was to perform the physicochemical and functionaltechnological characterization of three varieties of Peruvian quinoa from the Junín Region: Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY) and Pasankalla (PK), in order to establish its possible uses in foods based on cereals or starches. The grains of the three varieties presented grade 1 quality, large grain size and microbiologically complied with national regulations. Flours and starches showed differences in chemical composition. The starches showed XRD type A crystallinity patterns, polygonal shape, small size, high crystallinity and low amylose content. The thermal, bonding and starch gel properties showed differences. PK starch, with lower amylose, had lower transition temperatures; BH starch, with greater amylose, presented the lowest enthalpy of gelatinization. PK starch showed lower: maximum time, return viscosity (SB) and synergy with positive correlation to amylose content; It also showed higher: maximum viscosity (PV), rupture (BD), water retention capacity and firmness with a negative correlation to the amylose content. Differences in the physicochemical and functional-technological properties of starches suggest several possible uses in the food industry. Concurrently, the training of sensory judges was carried out and the sensory quality of the bitter taste was obtained for quinoa BH (weak-1.8 cm), RHY (very weak-0.8 cm) and PK (absent-0 cm); difference attributable to saponin content. The evaluation of genetic differences between trained sensory judges allowed to qualify them genetically and sensoryly as medium PROP tasters with sensory ability in the perception of bitter taste through the evaluation of nucleotide polymorphism (SNP) at position 145 (rs713598 C / G) of the TAS2R38 bitter taste receptor using PCR-RFLP and also by sensory classification of PROP taster.

Keywords: Quinoa starch, amylose, thermal and pasting properties, trained panel, bitter taste, TAS2R38 gene polymorphism.

I. INTRODUCCIÓN

La quinua por su alto valor nutritivo, ha adquirido importancia económica local y mundial, junto con la kiwicha y cañihua es la base de la alimentación de los pobladores de las zonas andinas del Perú. Su producción, procesamiento y comercialización están entre las principales actividades económicas de las comunidades de las regiones de Cusco y Puno.

El resultado de las investigaciones orienta a que las propiedades específicas de la quinua y su almidón deban ser identificadas y caracterizadas, y se deba desarrollar las tecnologías que permitan la explotación de tales propiedades, para que puedan competir con otras materias primas. La quinua tiene propiedades funcionales (tecnológicas) como solubilidad, capacidad de retención de agua, gelificación, emulsificación, y formación de espuma que permiten diversos usos.

Se ha realizado la caracterización de diferentes almidones de cereales como el sorgo, maíz, kiwicha, cañihua, centeno entre otros y de leguminosas y tubérculos que han permitido direccionar su uso en diferentes aplicaciones tecnológicas, habilitando su explotación como cultivo, como materia prima y como productos procesados. Se tiene la misma expectativa con la quinua y su almidón.

Una de las mayores dificultades del uso de la quinua con fines tecnológicos e industriales, es la falta de caracterización de los almidones presentes en las variedades que se encuentran en el Perú; por ello se requiere del estudio de las propiedades físico-químicas dependientes del contenido de almidón, composición química, tamaño del gránulo y contenido de amilosa, entre otras, propias de cada variedad, que le confieren propiedades funcionales específicas que se requiere conocer para establecer perfiles de uso para consumo humano e industrial, facilitando su disponibilidad en la cadena de suministro de alimentos.

Adicionalmente está la presencia de saponinas en el epidermo del grano de quinua, que deben ser eliminadas antes de su comercialización. Se ha realizado mejora genética para la obtención de variedades dulces pero éstas tienen menor rendimiento que las variedades amargas, que se producen en mayor grado. El control de la eliminación de saponinas para la comercialización del grano perlado requiere del empleo de métodos cualitativos y

cuantitativos que permitan garantizar el menor contenido para su uso, complementario a la preservación de su valor nutricional; dichos métodos tienen el inconveniente de ser costosos o requerir tecnologías avanzadas que no están al alcance del productor primario, transformador o comercializador en la cadena alimentaria de la quinua. El contenido cualitativo de saponinas se puede conocer a través de la evaluación sensorial, por lo que se requiere de la conformación de un panel entrenado capaz de detectar el sabor amargo por la presencia de saponinas en los granos de quinua, la misma que puede ser empleada como herramienta de control de calidad, procesamiento e investigación y desarrollo en la comercialización de quinua perlada.

La evaluación de la habilidad en la percepción del sabor, a través de umbrales de identificación y de procedimientos de estimación de magnitud, permite calificar indivíduos con mayor sensibilidad al sabor amargo, sin embargo dicha sensibilidad y la consecuente clasificación en catadores, súper catadores o no catadores, tiene un carácter hereditario y se encuentra correlacionado con los polimorfismos individuales ubicados en el gen receptor TAS2R38, por lo que se requiere evualar las diferencias genéticas de los jueces entrenados en sabor amargo con el fin de calificarlos como catadores, con sensibilidad demostrada, en la percepción del sabor amargo en quinua.

El objetivo principal fue evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcional-tecnológicas de tres variedades de quinua (Rosada de Huancayo, Blanca de Hualhuas y Pasankalla), provenientes de la Región Junín, con el fin de determinar su potencial uso.

Los objetivos específicos fueron:

- Estudiar las propiedades físicoquímicas y funcional-tecnológicas de los granos de tres variedades de quinua: Blanca de Hualhuas, Rosada de Huancayo y Pasankalla, provenientes de la Región Junín.
- Determinar la calidad sensorial de las tres variedades de quinua a través de la conformación de un panel sensorial entrenado en la evaluación del sabor amargo en quinua.
- Evaluar las diferencias genéticas, relacionadas con la sensibilidad al sabor amargo, en jueces sensoriales entrenados a través del polimorfismo del Gen TAS2R38 aplicando PCR-RFLP.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 LA QUINUA

2.1.1 Aspectos botánicos y producción

La quinua, grano andino, es una *Chenopodiacea* de alto valor nutricional (Mujica *et al.*, 2006). Usada por las culturas pre-colombinas en Sudamérica (Repo-Carrasco *et al.*, 2010), se cultiva en la región andina hace más de siete mil años y en las últimas décadas ha sido redescubierta por sus cualidades nutricionales y funcionales (FAO, 1998). En el año 1996 fue catalogada como uno de los cultivos promisorios para la seguridad alimentaria global, y en reconocimiento a los pueblos andinos que la preservaron, el año 2013 fue declarado, por las Naciones Unidas, como "Año Internacional de la Quinua" (Cogliatti y Heter, 2016).

Botánicamente, la quinua *Chenopodium quinoa* Willd. (abreviatura de su autor Carl Ludwig Willdenow) (Wilson, 1988), posee la clasificación botánica (Mujica *et al.*, 2001; FAO, 2019):

REINO : Plantae

DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
ORDEN : Caryophyllales
FAMILIA : Amaranthaceae
GÉNERO : Chenopodium

ESPECIE : Chenopodium quinoa

NOMBRE CIENTÍFICO: Chenopodium quinoa Willdenow

NOMBRE COMÚN: Quinua

Es una planta herbácea, anual, erguida, de más de 1 m de altura. El fruto es un aquenio cubierto por el perigonio, de forma estrellada cuando está maduro, da color al fruto y se asocia a la planta (verde, rojo, púrpura). El pericarpio de colores variados (crema, anaranjado, rosado, rojo, granate, café y negro) está pegado a la semilla, presenta alveolos y contiene saponina responsable del sabor amargo del grano. La semilla está envuelta por el episperma, membrana delgada color translúcido, crema, café o negro. El embrión está formado por los cotiledones, almidonosos y normalmente de color blanco, y la radícula, que

envuelve al perisperma como un anillo (Mujica *et al.*, 2001 y Cogliatti y Heter, 2016). En la Figura 1 se presenta las partes del grano de quinua.

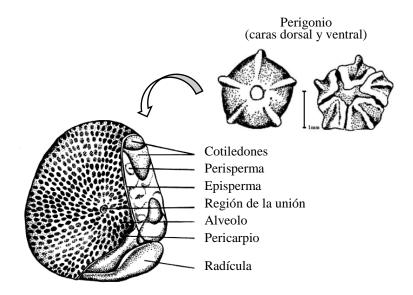


Figura 1: Partes del grano de la quinua

Fuente: Mujica et al. (2001) y Cogliatti y Heter (2016)

El cultivo de la quinua tiene distribución mundial en América, Europa, Asia y África (Mujica *et al.*, 2001). Los principales productores son Perú, Bolivia y Estados Unidos y se encuentra en expansión en más de 70 países (FAO, 2013). Posee gran tolerancia al frío y sequía y crece desde el nivel del mar hasta 4000 metros (msnm) (Anabalon y Thomet, 2009). La zona de mayor diversidad y variación genética se encuentra a orillas del Lago Titicaca de Perú y Bolivia (Mujica *et al.*, 2001); Aguilar y Nieto (1981) señalan que existen cerca de 250 especies distribuidas por América y el mundo.

Tapia (1982) citado por Estrada *et al.* (2014), clasificó la quinua, por su adaptación a diferentes condiciones agroecológicas, en cinco tipos, que incluyen diversas variedades:

- i) Quinuas de zonas mesotérmicas, como los valles interandinos.
- ii) Quinuas del Altiplano norte del lago Titicaca, que comparten el Perú y Bolivia.
- iii) Quinuas de los salares, en el Altiplano sur de Bolivia.
- iv) Quinuas que se cultivan a nivel del mar en el centro y sur de Chile; y
- v) Quinuas de los yungas o zona subtropical en la vertiente oriental de los Andes, Bolivia.

Las variedades de quinua cuyos cultivos están vigentes en la actualidad se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Variedades y ecotipos de quinua cultivadas en los andes

País	Tipo	Nivel/Andes	Color/Grano	Sabor
	Yanamarca	Valle	Blanco	Semidulce
	Blanca de Junín	Valle	Blanco	Semidulce
	Rosada de Junín	Valle	Rojo	Semidulce
	Nariño	Valle	Blanco	Dulce
	Amarilla de Marangani	Valle	Amarillo	Amargo
	Huancayo	Valle/Cruce	Blanco	Semidulce
Perú	Hualhuas	Valle/Cruce	Blanco	Semidulce
Peru	Mantaro	Valle/Cruce	Blanco	Semidulce
	Blanca de Juli	Altiplano	Blanco	Semidulce
	Tahuaco I	Altiplano	Blanco	Semidulce
	Kcancolla	Altiplano	Blanco	Semidulce
	Cheweca	Altiplano	Rosado	Amargo
	Witulla	Altiplano	Púrpura	Amargo
	Selección Jujuy	Valle	Cristalino	Semidulce
	Chucapaca	Cruce	Blanco	Semidulce
	Camiri	Cruce	Blanco	Semidulce
	Waranga	Cruce	Blanco	Semidulce
	Sajama	Cruce	Blanco	Dulce
	Sajama amarantiforme	Cruce	Blanco	2 0.100
	Samaranti	Altiplano	Blanco	
	Sayaña	Altiplano	Amarillo-crema	
	Tupiza	Valle	Blanco	Amargo
Bolivia	Chullpi	Salar	Cristalino	Amargo
Donvia	Chiara	Salar	Púrpura	Amargo
	Kellu	Salar	Amarillo	Amargo
	Chullpi pasancalla	Salar	Cristalino/rosado	Amargo
	Michka	Salar	Rojo	Amargo
	Pantela	Salar	Rosado	Amargo
	Jachapuco	Salar	Blanco	Amargo
	Pasancalla	Salar	Rosado	Amargo
	Real blanca	Salar	Blanco	Amargo
	Cochasqui	Valle		Semidulce
	Imbaya	Valle	Blanco opaco Blanco opaco	Semidulce
	Amarga de Chimborazo	Valle	Dianco opaco	Amargo
	Quinua de Carchi	Valle		Semidulce
Ecuador	Morada	Valle		
Ecuador				Amargo
	Chaucha de Yaruqui	Valle		Amargo
	Amarga de Imbadura	Valle		Amargo
	Tunkahuan			
	Ingapirca			
Colombia	Dulce de Quitopampa	Valle	Blanco	Dulce
	Baer	Nivel del mar	Castaño	Semiamarg
Chila	Faro	Nivel del mar	Castaño/marrón	Semiamarge
Chile	Litu	Nivel del mar	Castaño	Semiamarge
	Pichaman	Nivel del mar	Castaño	Semiamarge

Fuente: Tapia (1997)

En el Perú, la quinua se conserva en ocho bancos de germoplasma (6302 accesiones), en las estaciones experimentales del INIA, en Illpa (Puno-Banco Nacional), Andenes (Cusco), Canaán (Ayacucho), Santa Ana (Huancayo), Baños del Inca (Cajamarca), asi como en la Universidad Nacional Agraria La Molina de Lima, la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, y la Universidad Nacional del Altiplano de Puno (Rojas *et al.*, 2014). Las 21 variedades comerciales de quinua en el Perú incluyen: INIA 433 Santa Ana/AIQ/ FAO, INIA 431 Altiplano, INIA 427 Amarilla Sacaca, INIA 420 Negra Collana, INIA 415 Pasankalla, Illpa INIA, Salcedo INIA, Quillahuaman INIA, Ayacuchana INIA, Amarillo Marangani, Blanca de Juli, Blanca de Junín, Cheweca, Huacariz, Hualhuas, Huancayo, Kankolla, Mantaro, Rosada de Junín, Rosada de Taraco, Rosada de Yanamango (Apaza *et al.*, 2013). Las variedades nativas incluyen Blancas, Janko o Yurac, Chulpi o Hialinas, Witullas, Coloreadas, Wariponcho, Q'oitu, Pasankallas y Cuchi willa (Bazile y Santivañez, 2014).

Según MINAGRI (2014), en el Perú se produce quinua todo el año; hasta el 2012 el 96 por ciento provenía de la sierra, el 2013 cae a 89 por ciento por la introducción del cultivo a la costa, hasta alcanzar en el 2014 60 por ciento en la sierra y 40 por ciento en la costa. Se cultiva en 19 de los 24 departamentos, siendo Puno, Arequipa, Junín y Ayacucho las principales regiones productoras (IICA, 2015).

En el 2014 el área sembrada creció 43 por ciento (68 mil hectáreas y 114 mil toneladas de quinua) (MINAGRI, 2014) y las exportaciones 98 por ciento (36,3 mil toneladas) (MINAGRI, 2015). Al 2015 la producción nacional se redujo a 105 mil toneladas y las exportaciones se incrementaron 41.4 mil toneladas. Al 2016, dado la caída de precios en el 2015 y 2016, la producción fue de 77,7 mil toneladas y 44,3 mil toneladas de exportación (MINAGRI, 2017). La exportación está destinada principalmente al mercado internacional de alimentos funcionales (INEI, 2014).

2.1.2 Composición química y usos

El valor nutricional de la quinua es superior comparada con otros granos (Hirose *et al.*, 2010). Es reconocida por su alto contenido de proteínas, excelente digestibilidad (92 por ciento) y contenido balanceado de los aminoácidos esenciales (Mota *et al.*, 2016).

La proteína 13,8-16,5 por ciento (Wright *et al.*, 2002; Elsohaimy *et al.*, 2015; Mota *et al.*, 2016 y Navruz y Şanlier, 2016) es rica en lisina y metionina (Ranhotra *et al.*, 1993). El contenido de lípidos es mayor que en los cereales comunes, varía de 5,6-7,5 por ciento (Koziol, 1992; IICA, 2015), es rico en ácidos grasos poliinsaturados (linoeico y linolénico) y

ácido oleico (55-63 por ciento de la fracción lipídica), estable frente a la rancidez oxidativa por su elevado contenido de tocoferol (Koziol, 1992). La fibra dietaria de 1.1-16.3 por ciento (Tapia, 1997) puede disminuir en el proceso de eliminación de saponinas por escarificado (IICA, 2015).

El contenido carbohidratos se encuentra en el rango de 73,6-74 por ciento (USDA, 2005 y Wright et al., 2002), comparable con el de cebada y arroz. En la Tabla 2 se presenta la composición de carbohidratos (por diferencia en base seca). El principal carbohidrato de la quinua es el almidón, entre 55,2-69,2 por ciento. La fibra dietaria total está entre la de los cereales. Según (Ranhotra et al., 1993) los granos de quinua presentan alrededor de 3 por ciento de azúcares simples; Oshodi et al. (1999), señalan que dichos azúcares individuales en su mayoría son maltosa, seguidos por D-galactosa y D-ribosa; también contiene fructosa y glucosa.

Tabla 2: Composición de carbohidratos en granos de quinua y cereales (porcentaje en base seca)

Composición	Granos de Quinua	Arroz	Cebada
Carbohidratos por diferencia	$73,6^{a}-74,0^{b}$	79,2ª	$77,0^{a}$
Almidón	$55,2^{a}-69,2^{c}$		
Fibra dietaria total	$7.0^{a} - 9.7^{d}$	$2,8^{a}$	15,6 ^a
Fibra insoluble	$6.8^{\circ} - 8.4^{\circ}$		
Fibra soluble	$1,3^{d}-6,1^{c}$		
Azúcares	2,9 ^d		0.8^{d}

Fuente: (a) USDA (2005)

(c) Mundigler (1998)

(b) Wright *et al.* (2002)

(d) Ranhotra *et al.* (1993)

Los carbohidratos desempeñan una función nutricional básica y pueden tener diferentes efectos fisiológicos en la salud, tales como: suministro de energía, efectos sobre la saciedad/vaciado gástrico, control de la glucosa en sangre y el metabolismo de la insulina; glicosilación de proteínas, metabolismo de colesterol y triglicéridos (FAO, 1998). La quinua puede ser considerada como un alimento nutracéutico, debido a su contenido de carbohidratos que tiene efectos beneficiosos hipoglucémicos e inducen la reducción de los ácidos grasos libres. Los estudios realizados en individuos con enfermedad celíaca mostraron que el índice glicémico de la quinua fue ligeramente inferior que los de pasta y pan sin gluten (Berti et al., 2004).

Es rica en minerales K, Ca, Mg, P y Fe (3.0 por ciento) mayor que los cereales convencionales (Hirose et al., 2010), así como en vitaminas del complejo B: Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Niacina (B3) (0.349-0.648 mg/100g) (Vega et al., 2010), presenta también ácido ascórbico (vitamina C), alfa y beta-carotenos y tocoferol, relevante por su potencial anticancerígeno y antiinflamatorio (Koziol, 1992).

Es un alimento funcional por su capacidad antioxidante (Vega *et al.*, 2010; Hirose *et al.*, 2010, Repo-Carrasco *et al.*, 2010 y Alvarez-Jubete, 2010), y con capacidad de actuar como fitoestrógenos por su contenido de isoflavonas, daidzeína y genisteína (Lutz *et al.*, 2013).

No contiene gluten por lo que puede ser consumido por personas que tiene la enfermedad celiaca y son alérgicas al trigo (Ranhotra *et al.*, 1993).

La quinua es considerada un cultivo agroindustrial multipropósito (Galwey, 1993). Se usa como grano, insumos alimentarios y alimentos procesados (Bhargava *et al.*, 2006), bajo la forma de expandidos, harina, "leche", hojuelas, extruídos, colorantes, proteína concentrada, granos perlados crudos y precocidos, germinados, malteados, néctares, fideos, golosinas, mermeladas, etc. (Mujica *et al.*, 2006) y como alimento para animales (forraje verde y pellets) (Jacobsen, 2003). A nivel industrial el almidón de quinua con gránulos pequeños y uniformes, tiene aplicaciones como mejorador de flujo a ser incorporado en productos de harina de almidón, materiales de carga en la industria del plástico, *anti-offset* y polvos finos. Las saponinas se usan como insecticidas, antibióticos y fungicidas, y en la industria farmacéutica como un mediador de la permeabilidad intestinal, lo que podría ayudar a la absorción de fármacos específicos, y la reducción del nivel de colesterol (Jacobsen, 2003).

2.1.3 Saponinas en la quinua

Las saponinas son glucósidos cuyo nombre proviene de la planta del género Saponaria, cuya raíz se utiliza como jabón (sapo, onis = jabón), son solubles en agua y forman soluciones con espuma (Sparg *et al.*, 2004). Son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en las plantas y se han identificado alrededor de 30 saponinas (Ahumada *et al.*, 2016). Se clasifican en cuatro subgrupos: triterpénicas (distribuidas en el reino de las dicotiledóneas), esteroidales, esteroidales alcalinas y saponinas de organismos marinos (Monje y Raffaillac, 2006).

Químicamente, las saponinas son compuestos constituidos por un anillo terpenoide o esteroidal, conocido como aglicona o sapogenina (mono, di o triglicosiladas) e hidrófoba, unida a una cadena de oligosacáridos (hidrosolubles) que consiste en arabinosa, glucosa, galactosa, ácido glucurónico, xilosa y ramnosa (menos metilpentosa) (Kuljanabhagavad y Wink, 2009). El carácter ambifílico de la saponina le otorga la capacidad de formar espuma (Troisi *et al.*, 2014).

La quinua, dicotiledónea, presenta saponinas en toda la planta, cuya función natural es su defensa desde el medio externo (Francis *et al.*, 2002). El pericarpio o cáscara de la semilla contiene saponinas del tipo triterpénicas (Ahumada *et al.*, 2016) con tres cadenas de azúcares (Güçlü-Üstündag y Mazza, 2007). La cantidad de saponinas es muy variable entre variedades y permiten su clasificación en quinuas dulces con contenido bajo de saponina (<0,11 por ciento) (Gómez-Caravaca *et al.*, 2014; Bhargava *et al.*, 2006), quinuas amargas con contenido mayor a >0,11 por ciento como 0,14 a 2,3 por ciento (Masterbroek *et al.*, 2000), hasta quinuas con contenido de 5 por ciento (Koziol, 1992).

Las saponinas son el principal factor antinutricional presente en la cubierta de la semilla (Ruales y Nair, 1994a,b); estudios en ratas revelaron que los animales alimentados con dietas de quinua sin lavar mostraron un efecto negativo en el crecimiento y reducción de la eficiencia de conversión de alimentos (Gee *et al.*, 1989).

Por otro lado las saponinas han demostrado actividad insecticida, antibiótica, fungicida, y farmacológica. Woldemichael y Wink (2001) identificaron cinco saponinas de quinua (glicósidos de ácido oleanólico y hederagenina) con actividad antifúngica contra *Candida albicans*. Stuardo y San Martin (2008) encontraron una mayor actividad antifúngica frente a *Botrytis cinerea* con saponina proveniente de quinua tratada con álcali. Sin embargo las saponinas presentan también propiedades beneficiosas para la salud, como: analgésico, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antiviral, actividad citotóxica, efecto sobre la absorción de minerales y vitaminas y el crecimiento de los animales, efecto hemolítico e inmunoestimulante, aumento de la permeabilidad de la mucosa intestinal, acción neuroprotectora, y reducción de la absorción de grasa (Güçlü-Üstündag y Mazza, 2007).

De acuerdo con su estructura química, las saponinas pueden ser eliminadas mediante lavado con agua (Chauhan *et al.*, 1992a). Zhu *et al.* (2002) recomiendan el uso de agua ligeramente alcalina.

2.2 EL ALMIDÓN EN LA QUINUA

2.2.1 Almidón: amilosa y amilopectina

El almidón, alimento de reserva en vegetales proporciona calorías y carbohidratos digestibles a la dieta humana. Se usa como parte de granos, harinas, cereales para desayunos y alimentos procesados. Los almidones comerciales se obtienen de cereales y tubérculos y se usan como agentes adhesivos y ligantes, formadores de turbidez y de película, para

reforzar la estabilidad de espumas, gelificantes, para el glaseado, retención de humedad y mejora de la textura, estabilizante y espesante (BeMiller y Huber, 2010).

El almidón está formado por partículas discretas denominadas gránulos, compuestos de polímeros lineales (amilosa) y ramificados (amilopectina) (BeMiller y Huber, 2010), además de pequeñas cantidades de lípidos y proteínas (Belitz *et al.*, 2012). Los gránulos de tamaño 2-150 μm, están formados por capas concéntricas o excéntricas de distinta densidad de polímeros dispuestos radialmente y forma semicristalina; en el 70 por ciento amorfo se localiza principalmente la amilosa y una fracción de amilopectina y en el 30 por ciento cristalino predomina la amilopectina (Belitz *et al.*, 2012).

La amilosa consta de una cadena lineal de unidades de α -D-glucopiranosilos unidas por enlaces (1 \rightarrow 4), pudiendo existir unas pocas cadenas ramificadas conectadas por enlace α -D-(1 \rightarrow 6) cada 180-320 unidades (0,3-0,5 por ciento) (BeMiller y Huber, 2010). Tiene un peso molecular de 10⁵-10⁶ Da, con un grado de polimerización (GP) 324-4920 (GP: número de unidades de glucosa unidas en una cadena), con 9-20 puntos de ramificación equivalente a 3-11 cadenas por molécula y cada cadena con 200-700 glucosas equivalente a un peso molecular de 32400-113400 Da (Tester *et al.*, 2004). Posee forma espiral o helicoidal enrollada (Figura 2) y la mayoría de almidones contiene alrededor de 25 por ciento de amilosa (BeMiller y Huber, 2010).

La amilopectina es molécula muy grande y extremadamente ramificada de unidades de α -D-glucopiranosilos unidas por enlaces (1 \rightarrow 6). Consta de una cadena que contiene el único grupo terminal reductor; a esta cadena se unen numerosas cadenas ramificadas (enlaces α -D-(1 \rightarrow 6) que corresponden al 4-5 por ciento del total de enlaces), y éstas últimas, por su parte se articulan a un tercer nivel de una o varias cadenas ramificadas, formando racimos y se presentan en forma de dobles hélices (Figuras 2 y 3).

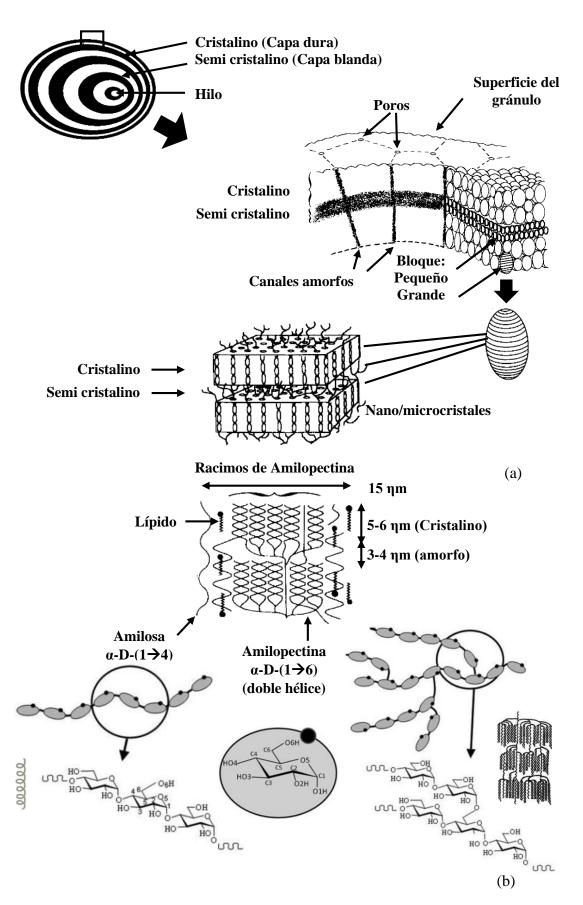


Figura 2: Estructura molecular del gránulo de almidón

Fuente: Adaptado de (a) Gallant et al. (1997) (b) Pérez y Bertoft (2010)

En la estructura de la amilopectina se encuentran cadenas lineales A (GP 15) y B (GP 45), formando zonas cristalinas (racimos), separadas por una región de ramificación muy angosta del tipo amorfa. La cadena B columna de la molécula de amilopectina se extiende sobre dos o más racimos y cada racimo tiene de dos a cuatro cadenas A como se muestra en la Figura 3 (Pérez y Bertoft, 2010). Los pesos moleculares de la amilopectica van desde 10⁷ (GP ~ 60000) hasta 5 x 10⁸ (GP ~ 3000000) (Tester *et* al., 2004 y BeMiller y Huber, 2010). Existe en todos los almidones y comprende alrededor del 75 por ciento, y cuando los almidones constan sólo de amilopectina se denominan céreos (BeMiller y Huber, 2010).

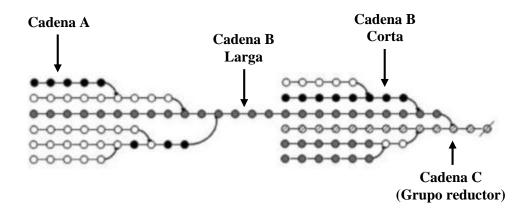


Figura 3: Amilopectina - Cadenas A, B y C

Fuente: Pérez y Bertoft (2010)

En la quinua el contenido de almidón es aproximadamente 55,2-69,2 por ciento en base seca, semejante a otros cereales (Tabla 3). El almidón de quinua se encuentra muy ramificado, con un mínimo grado de polimerización de 4600-161000 unidades de glucosa y un promedio ponderado de 70000 (Praznik *et al.*, 1999). La longitud de la cadena puede depender del origen botánico del almidón, pero será del orden de 500-6000 unidades de glucosa.

El contenido de amilosa varía entre 3 y 20 por ciento; es una fracción baja, similar a la de algunas variedades de arroz, y mayor que la de algunas variedades de cebada (Morrison *et al.*, 1986) (Tabla 3). De acuerdo con Tang *et al.* (2002) el grado promedio de polimerización de amilosa en la quinua (900) es menor que la de cebada (1700). La amilosa tiene un promedio de 11,6 cadenas por molécula.

La amilopectina es una de las moléculas que se determina por diferencia luego de la cuantificación de amilosa. En el almidón de quinua el contenido de amilopectina, es aproximadamente 77,5 por ciento (Tari *et al.*, 2003). La fracción de amilopectina es alta y comparable a la de algunas variedades de arroz (Tukomane y Varavinit, 2008) (Tabla 3). La

amilopectina de quinua tiene una distribución de cadena longitudinal única como amilopectina cérea, con 6700 unidades de glucosa (Tang *et al.*, 2002).

La amilopectina de quinua, como la de trigo y amaranto, contiene un gran número de cadenas cortas de 8 a 12 unidades y un pequeño número de cadenas más largas de 13 a 20, en comparación con los almidones del endospermo de otros cereales (Inouchi *et al.*, 1999).

Tabla 3: Almidón en granos andinos y cereales comunes (porcentaje en base seca)

Granos	Contenido de Almidón	Amilosa	Amilopectina	Tamaño del gránulo (µm)
Quinua	$55,2-69,2^{g,h,i}$	$3,5-22,5^{a,b,c,d,k}$	77,5 ^{a,b,c,d,k}	$0.6^{r}-2^{a,b}$
Kiwicha	$62,0-65,0^{i,j}$	$2 - 12^{j}$		$1,0-2,0^{\rm b}$ $0,5-2,5^{\rm j}$
Kañiwa Arroz	$90,1-94,6^k \ 76,8\pm0,8^i$	$11,7 - 18,9^k$ $7,4 - 29,8^e$	61,0 ^p	$< 2.0^{k}$ 3.0 - 8.0 ^s
Cebada	$65,0-68,0^{1}$	$1,0-45,0^{\rm f}$		2.0 - 3.0 y $12.0 - 32.0^{\text{u}}$
Maíz	$69,1 - 86,0^{m}$	28,3 ^p	71,6 ^p	$5,0-20,0^{p,u}$
Sorgo rojo	$41,33 \pm 1,06^{\text{n}}$	$23,73 \pm 6,9^{\text{n}}$	$70,39 \pm 6,9^{\text{n}}$	$13,89 \pm 2,39^{\text{n}}$
Sorgo blanco	$42,58 \pm 2,25^{\text{n}}$	$29,61 \pm 5,49^{\text{n}}$	$76,27 \pm 5,49^{\rm n}$	$13,10 \pm 2,47^{\rm n}$
Trigo	$64,0^{\circ}$	$25,0-28,0^{\rm r}$	$72,0-75,0^{q}$	$1,0-30,0^{\circ}$

Fuente:

(a) Tang et al. (2002)

(b) Qian y Kuhn (1999)

(c) Tari et al. (2003)

(d) Lindeboon (2005)

(e) Tukomane y Varavinit (2008)

(f) Morrison et al. (1986)

(g) USDA (2005)

(h) Mundigler (1998)

(i) Nascimento et al. (2014)

(j) Singh y Singh (2011)

(k) Stefolanni et al. (2013)

- (1) Quinde *et al.* (2004)
- (**) Mendez Montalvo et al. (2005)
- (n) Bustos-Vasquez et al. (2010)
- (°) Kent (1987)
- (p) Betancur-Ancona (2001)
- (q) Colonna y Buleon (1992)
- (r) Ruales y Nair (1993)
- (s) Clédat et al. (2004)
- (t) Lindeboom et al. (2004)
- (u) Jane et al. (1994)

La cantidad relativa de amilosa y amilopectina condiciona la funcionalidad específica del almidón. En la industria alimentaria, almidones con alta proporción de amilosa se usan en snacks para crear la crujencia y actúan como barrera impidiendo la penetración del aceite durante la fritura; en la producción de geles actúan como fuerte agente gelificante produciendo un rápido cuajado y en caramelos como película de revestimiento. Sin embargo altos niveles de amilosa ocasionan problemas de retrogradación cuando el almidón se recristaliza. Por otro lado almidones con alto contenido de amilopectina se usan para mejorar la uniformidad, estabilidad, textura de alimentos y su estabilidad en el congelado y descongelado (Slattery *et al.*, 2000).

2.2.2 Tamaño y forma del gránulo de almidón

Las características morfológicas de los almidones de diferentes fuentes vegetales varían según el genotipo y las prácticas culturales (Singh *et al.*, 2003).

Los gránulos de almidón se reconocen por su forma, tamaño y posición del hilio o punto original de crecimiento del gránulo (Belitz *et al.*, 2012). El origen botánico genera las variaciones en el tamaño de los gránulos, forma (redonda, lenticular, poligonal) y distribución de tamaños (uni- o bimodal) (Tester *et al.*, 2004).

La Figura 4 muestra la forma poligonal de almidón de quinua, obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM) (Lindeboom, 2005; Qian y Kuhn, 1999 y Wang *et al.*, 2003), similar a la del almidón de amaranto y arroz (Kong *et al.*, 2009 y Qian y Kuhn, 1999). De acuerdo con Ruales y Nair (1994a) la fécula de granos de quinua también presenta gránulos poligonales, con partículas que pueden estar presentes individualmente y en forma de agregados esféricos.

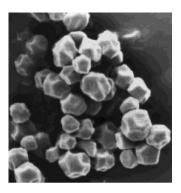


Figura 4: Micrografía de barrido electrónico del almidón de quinua (10000 x ampliación)

Fuente: Qian y Kuhn (1999)

Lindeboom *et al.* (2004) señalan que el tamaño del gránulo de almidón varía desde menos de 1 μm hasta más de 100 μm de diámetro, en función a ello se ha definido las siguientes clases de acuerdo al tamaño del gránulo: grande (>25 μm), mediado (10-25 μm), pequeño (5-10 μm) y muy pequeño (<5 μm). El almidón de quinua ha sido reportado como un gránulo muy pequeño (1-2 mm) (Ando *et al.*, 2002; Atwell *et al.*, 1983; Chauhan *et al.*, 1992a,b; Lindeboom, 2005; Lorenz, 2006; Qian y Kuhn, 1999; Tang *et al.*, 2002 y Tari *et al.*, 2003).

La Tabla 3 muestra los tamaños de los gránulos de almidón de diferentes orígenes, el tamaño del gránulo de almidón de la quinua es comparable con el de kiwicha e inferior a los demás reportados; tamaño que según Lindeboom *et al.* (2004), le permite producir una textura

cremosa, suave, que exhibe propiedades similares a las grasas, o puede ser incorporado en biopelículas.

Los almidones de quinua presentan superficies más uniformes y lisas que el almidón de mandioca. En la fabricación de papel el almidón de quinua puede mejorar la calidad de la superficie, se utiliza para cubrir los espacios vacíos de las fibras de celulosa, mejorando las propiedades mecánicas en la fabricación y el uso (Ramos, 2014) y en la industria cosmética, del papel, textil y fotográfica (Biliaderis *et al.*, 1993).

Otra aplicación de almidón de quinua es como relleno en películas biodegradables que incluyen bolsas de basura, bolsas para residuos de compostaje, bolsas de supermercado y mantillos agrícolas. Las películas biodegradables comerciales generalmente se fabrican a partir de polietileno de baja densidad (LDPE) que contiene aditivos degradantes tales como almidón y prooxidantes. La incorporación de almidón da como resultado una película de plástico con una estructura porosa, que mejora la accesibilidad de las moléculas de plástico a oxígeno y microorganismos (Ahamed *et al.*, 1996b).

2.2.3 Cristalinidad del almidón

A fin de explicar la estructura cristalina del almidón se realizan estudios de difracción de rayos X. Los gránulos de almidón nativo, dependiendo de su origen botánico, amilosa/amilopectina, y tamaño de la rama de amilopectina (que es predominantemente responsable de la cristalinidad de los gránulos: 15-45 por ciento), muestran tres tipos de patrones de difracción de rayos X, asociados con diferentes formas polimórficas cristalinas. El tipo A corresponde al almidón de cereales, el tipo B al almidón de tubérculos, y el tipo C que es una mezcla de los diagramas tipo A y B; es característico de muchas leguminosas y de cereales en crecimiento en condiciones específicas de temperatura e hidratación (cristales de A y B que coexisten en el gránulo) (Qian y Kuhn, 1999 y Gallant *et al.*, 1997). Los difractogramas del tipo A y B se representan en la Figura 5.

Los almidones de tipo A contienen longitudes de cadena ramificada más cortas que los almidones de tipo C y B (Hizukuri, 1985). Los almidones de tipo A tienen mayores niveles de cristalinidad (33-44 por ciento) y temperaturas de gelatinización que B, que muestran niveles que varían entre 15-28 por ciento y temperaturas de gelatinización más bajas (Tian *et al.*, 1991).

El almidón de quinua presenta patrones de difracción de rayos X tipo A. Asimismo el grado de cristalinidad relativa del almidón de quinua varía entre 35 a 43 por ciento, superior al

almidón de cebada normal, menor que el almidón de kiwicha o amaranto, y similar a la del almidón de cebada cérea (Qian y Kuhn, 1999 y Tang *et al.*, 2002).

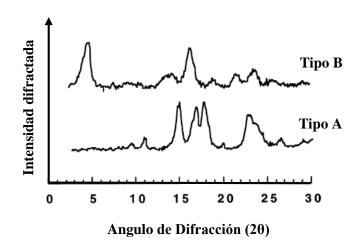


Figura 5: Diagramas de difracción de rayos X de almidones tipo A y B

Fuente: Adaptado de Buleon et al. (1998)

2.2.4 Gelatinización y Propiedades Térmicas en DSC

Los gránulos de almidón sin daño alguno, son insolubles en agua fría pero pueden absorber agua de forma reversible, es decir, pueden hincharse ligeramente y volver después, al secarse, a su tamaño original. Cuando los gránulos de almidón se calientan en agua sufren un proceso denominado gelatinización (BeMiller y Huber, 2010). Desde el punto de vista tecnológico es muy importante en operaciones del procesado de alimentos como horneado de pan y pasteles, extrusión de productos a base de cereales, espesamiento y gelificación de salsas y rellenos de pastel, todos dependientes de la gelatinización adecuada del almidón (Biliaderis *et al*; 1980). Asimismo es importante en la industria de adhesivos, agroquímica, cosméticos, detergentes, medicina, extracción de petróleo, producción de papel y cartón, productos farmacéuticos, plásticos, purificación y textil (Ellis *et al.*, 1998).

La gelatinización, proceso endotérmico, es el fenómeno que modifica y produce disrupción de la organización molecular dentro de los gránulos, la pérdida de la organización está influenciada por las interacciones almidón-agua a determinada temperatura, generando cambios en la estructura cristalina, el hinchamiento irreversible de los gránulos, la fusión cristalina nativa, la pérdida de la birrefringencia, la solubilización del almidón y de la estructura cristalina (BeMiller y Huber, 2010; Liu *et al.*, 2002; Wani *et al.*, 2012).

La gelatinización total se produce en un intervalo de temperatura; la temperatura de inicio de gelatinización y el intervalo del fenómeno, dependen del método de medirla, de la relación almidón y agua, tipo de gránulo y del grado de heterogeneidad de los gránulos (BeMiller y Huber, 2010). En cuanto al tipo de gránulo, la gelatinización e hinchamiento están controlados, en parte, por la estructura molecular de la amilopectina (largo de la cadena unitaria, extensión de la ramificación, peso molecular y polidispersidad), composición de almidón (relación de amilosa/amilopectina, contenido de fósforo, lípidos, proteínas y enzimas), arquitectura de los gránulos (proporción cristalina y amorfa), morfología de los gránulos y la distribución de tamaños de gránulos (Singh *et al.*, 2003; Wani *et al.*, 2012).

Durante este proceso se llevan a cabo dos etapas: (i) los gránulos se hidratan progresivamente dando lugar a que las regiones cristalinas se transformen en regiones amorfas y (ii) los gránulos continúan absorbiendo agua e hinchándose y por el aumento de temperatura se pierde la forma granular y tienden a la gelificación y/o solubilización; acompañada de la lixiviación de amilosa, formándose una pasta viscosa (Tester y Karkalas, 1996; BeMiller y Huber, 2010; Wani *et al.*, 2012).

La gelatinización se inicia en el hilio de los gránulos de almidón (regiones amorfas), donde el enlace hidrógeno es débil, y el rápido hinchamiento provoca el traslado hacia la periferia (regiones cristalinas) (Singh *et al.*, 2003). Inicialmente los gránulos de almidón se encuentran en un estado ordenado (cristalino), con el incremento de la temperatura se suceden diversos eventos que desencadenan a un estado desordenado; los gránulos de almidón inicialmente se mantienen unidos mediante puentes de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos entre cadenas, el incremento de la temperatura sobre los 66°C, produce una reducción abrupta de la cristalinidad lo que se traduce en la pérdida del grado de ordenamiento longitudinal de la estructura de doble hélice (amilopectina) (Liu *et al.*, 2002).

La pérdida de cristalinidad se debe a la destrucción de los enlaces de hidrógeno del gránulo, con lo cual las moléculas de agua actúan como un plastificante y quedan unidas a los grupos hidroxilo del almidón y se produce la hidratación e hinchamiento del gránulo de la región amorfa, la misma que se funde o somete a transición vítrea. Por último se produce la liberación de las moléculas poliméricas, que se evidencia por la presencia de amilosa, estos polímeros lineales se difunden al exterior del gránulo hinchado durante y después de la gelatinización, originando una fase continua de gel en el exterior de los gránulos incrementado su viscosidad (Buleon *et al.*, 1998; Wani *et al.*, 2012).

La gelatinización es un fenómeno endotérmico, por ello se monitoriza comúnmente mediante calorimetría diferencial de barrido "DSC" (*Differential Scanning Calorimetry*) que mide la temperatura y entalpías de gelatinización (BeMiller y Huber, 2010).

La DSC es la técnica experimental más directa y precisa para caracterizar sistemas moleculares bien definidos, cuyas estructuras están estabilizadas por numerosas fuerzas débiles y por consiguiente, susceptibles de experimentar transiciones conformacionales y/o cambio de fase al modificar la temperatura (Brown, 1998). Esta técnica termoanalítica permite supervisar los cambios en las propiedades físicas o químicas de los materiales en función de la temperatura, mediante la detección de los cambios de calor asociados con dichos procesos. El principio de medición se basa en comparar la velocidad de flujo de calor de la muestra con un material inerte que se calienta o enfría a la misma velocidad. Los cambios en la muestra, que están asociados con la absorción o la evolución del calor, provocan un cambio en el diferencial de flujo de calor que se registra como un pico. El área bajo el pico es directamente proporcional al cambio entálpico y su dirección indica si el evento térmico es endotérmico o exotérmico (Biliaderis, 1983).

Las propiedades térmicas de gelatinización que se obtienen por DSC incluyen las temperaturas de transición del almidón: temperatura de iniciación (T_o), temperatura en el punto medio o temperatura pico (T_p) y la temperatura al completarse la gelatinización (T_c o T_m); además requiere de la entrada de energía o entalpía de gelatinización (ΔH), la que varía entre gránulos por el grado de cristalinidad y composición (Singh *et al.*, 2003 y BeMiller y Huber, 2010). Cabe señalar que la energía requerida en la gelatinización comprende una parte significativa de los costos de procesamiento (Ellis *et al.*, 1998).

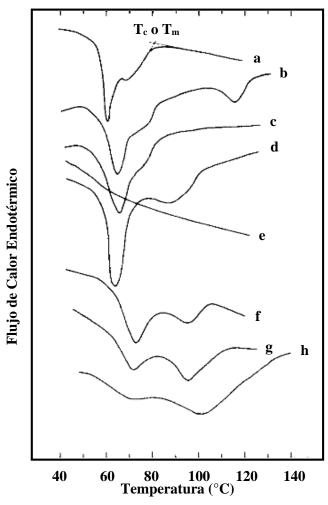
En el DSC las temperaturas de transición que se miden corresponden a las de primer orden (de fusión) y de segundo orden (transición vítrea), además de los cambios de flujo de calor, que brindan información sobre el fenómeno de orden/desorden de los gránulos de almidón. En la curva o termograma DSC del almidón, a niveles intermedios de agua, por lo general se observan tres transiciones endotérmicas, las dos primeras corresponden a la desorganización de los cristalitos de almidón, o gelatinización, en las que se producen transiciones vítreas de porciones amorfas plastificadas con agua y luego la fusión desequilibrada de los microcristalitos y de la amilopectina parcialmente cristalina. La tercera endoterma, que se produce a mayor temperatura y se relaciona con la fusión de complejos formados por amilosa y lípidos nativos (Biliaderis *et al.*, 1986).

Las propiedades térmicas de gelatinización que se obtienen por DSC se representan en un termograma, que es característico para cada tipo de almidón. Estas temperaturas y las áreas tomadas para calcular la entalpía de gelatinización (ΔH) se muestran en la Figura 6. Asimismo en la Figura 7 se presenta el termograma DSC del almidón de quinua.

La temperatura de inicio (T_o) y la temperatura final o de conclusión (T_c) determinan los límites de las diferentes fases en un material semicristalino como el almidón (Biliaderis *et al.*, 1986). La T_p da una medida de la calidad de los cristales (longitud de doble hélice). La entalpía de gelatinización (ΔH) da una medida global de cristalinidad (calidad y cantidad) y es un indicador de la pérdida de orden molecular dentro del gránulo (Tester y Morrison, 1990).

Las propiedades térmicas de gelatinización (T_o, T_p, T_c y ΔH) están influenciados por la arquitectura molecular de la región cristalina. La variación en T_p y (ΔH) y el rango de temperatura de gelatinización en almidones se atribuye a la diferencia en cantidades de cadenas de amilopectina más largas, las que requieren temperaturas más altas para disociarse completamente que la requerida para cadenas más cortas, así altas temperaturas de transición resultan de un alto grado de cristalinidad que proporciona estabilidad estructural y hace que el gránulo sea más resistente a la gelatinización. La presencia de amilosa disminuye el punto de fusión de las regiones cristalinas y con ello la energía requerida para iniciar la gelatinización, por lo que un almidón con mayor contenido de amilosa tiene mayor región amorfa que región cristalina, lo que reduce las temperaturas de gelatinización (Singh *et al.*, 2003).

El almidón de quinua gelatiniza a una temperatura relativamente baja ($T_o = 46,1-57,4$ °C, $T_p = 54,2-61,9$ °C y $T_c = 66,2-68,5$ °C) (Inouchi *et al.*, 1999). La primera transición térmica da la temperatura de gelatinización, y se ha encontrado entre 62,6 y 67° C (Qian y Kuhn, 1999; Ruales y Nair, 1994 y Tang *et al.*, 2002). Para esta transición la entalpía reportada para el almidón de quinua está entre 1,66 y 12,2 J/g (Qian y Kuhn, 1999; Tang *et al.*, 2002).



Muestras desgradas: (a) Papa; (b) maíz no desgrasado; (c) maíz; (d) maíz gelatinizado; (e) guisantes lisos; (f) guisante suave modificado con ácido (5,1 por ciento linternizado); (g) guisantes lisos modificados con ácido (9,6 por ciento linternizado); (h) guisante liso ácido modificado (20,2 por ciento linternizado). Porcentaje de almidón (p/p) de la parte superior a la inferior: 46,3; 46,9; 47,2; 48,4; 47, 5; 47,8; 47,9 y 47,6.

Figura 6: Termograma DSC de cereales, tubérculos y leguminosas

Fuente: Biliaderis (1983)

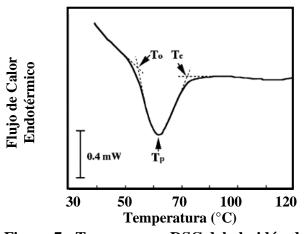


Figura 7: Termograma DSC del almidón de quinua

Fuente: Ando et al. (2002)

En la Tabla 4 se muestra las propiedades térmicas del almidón de quinua y otros cereales. El almidón de quinua tiene una temperatura de gelatinización similar al almidón de amaranto y más alto que el almidón de arroz. De acuerdo con Lindeboom (2005), el inicio de gelatinización y picos de temperaturas de almidones de quinua oscilaron desde 44,6 hasta 53,7 °C y 50,5-61,7 °C, respectivamente, y las entalpías de gelatinización de 12,8 a 15 J/g de almidón seco. Las temperaturas de gelatinización dependen positivamente del contenido de amilosa (Lindeboom, 2005; Youa y Izydorczyk, 2007). Los almidones de quinua presentan temperaturas de gelatinización más bajas que el almidón de cebada cérea y el almidón de amaranto (Qian y Kuhn, 1999; Youa y Izydorczyk, 2007).

Tabla 4: Propiedades térmicas de almidones de granos andinos y cereales comunes

Almidones	Entalpía de Gelatinización ∆H (J/g)	T ₀ (°C)	T _P (°C)	T _c (°C)
Quinua ^{a, b, c, e, f}	1.66 -15	44,6 - 59,9	54,5 - 69,3	71,0 - 86,4
Kiwicha ^{a, d}	2.58	66,3 60 -77	74,5	86,9
Kañiwa ^e	7.49 - 9.32	58,39 – 59,18	66,12 – 66,68	
Cebada ^f	14.8	66,4		
Maiz ^{g, h}	1.9 a 4.7 10.3	62,3	66,3	72,9
Sorgo rojo ⁱ	11.06 ± 0.89	$68,37 \pm 0,27$	$71,43 \pm 0,18$	$75,47 \pm 0,14$
Sorgo blancoi	11.06 ± 0.88	$66,19 \pm 0,43$	$71,00 \pm 0,50$	$75,49 \pm 0,63$

T_o (Temperatura de inicio), T_p (Temperatura de pico) yT_c (Temperatura final)

Fuente:

- (a) Qian y Kuhn (1999a)
- (b) Lindeboom (2005)
- (c) Youa y Izydorczyk (2007)
- (d) Singh y Singh (2011)
- (e) Steffolani et al. (2013)
- (f) Lindeboom et al. (2005)
- (g) Mendez-Montalvo et al. (2005)
- (h) Betancur-Ancona (2001)
- (i) Bustos-Vásquez *et al.* (2010)

2.2.5 Retrogradación del almidón

El enfriamiento de una pasta de almidón caliente conduce normalmente a formar un gel viscoelástico firme. El desarrollo de zonas de asociación de un gel puede considerarse como la primera fase de un intento de cristalización. Al enfriar y almacenar la pasta de almidón, ésta se hace progresivamente menos soluble. El proceso en que, colectivamente, las moléculas disueltas, o la pasta, son cada vez menos solubles se denomina retrogradación y afecta a la amilosa y amilopectina. La amilosa retrograda más rápidamente ya que la amilopectina requiere primero la asociación de sus ramificaciones más externas. La velocidad del suceso depende de: la relación molecular entre amilosa y amilopectina, la estructura de ambas determinada por la fuente botánica del almidón, temperatura,

concentración de otros ingredientes, principalmente agentes de superficie y sales. Muchos defectos de calidad en productos alimenticios, como el envejecimiento del pan (incremento de la firmeza de las migas y pérdida de frescura) o la pérdida de viscosidad y formación de precipitados en las sopas y salsas se deben, al menos en parte, a la retrogradación del almidón, sin embargo la adición de lípidos más polares con propiedades tensoactivas inhiben el avance de la firmeza de las migas al formar complejos con las moléculas poliméricas del almidón (BeMiller y Huber, 2010).

La retrogradación también se puede estudiar utilizando DSC. Esto implica la gelatinización del almidón usando un programa de calentamiento DSC para medir la entalpía de la gelatinización y luego almacenando muestras gelatinizadas en condiciones de retrogradación, normalmente a 4°C (refrigeración). Las muestras se vuelven a analizar a intervalos periódicos usando el mismo programa de calentamiento que para la gelatinización. El grado de retrogradación se determina calculando la relación entre la entalpía de retrogradación y la de gelatinización, usualmente expresada como un porcentaje (Karim *et al.*, 2000).

2.2.6 Gelatinización y propiedades de pegado en RVA

El calentamiento continuo del almidón en exceso de agua y con agitación produce la ruptura de su estructura nativa, los gránulos se hinchan y se rompen, a continuación la amilosa se lixivia y los gránulos se desintegran dando como resultado la formación de un material viscoso llamado pasta (BeMiller, 2007). El pegado se produce después o simultáneamente con la gelatinización. Las propiedades de pegado del almidón son indicadores de cómo se comportará durante el procesamiento y su idoneidad en diferentes alimentos y otros productos. La característica de pegado más importante de la dispersión de almidón granular es su viscosidad. La elevada viscosidad de la pasta sugiere su aptitud como agente espesante en los alimentos y como agente de acabado en las industrias textil y del papel (Wani *et al.*, 2012).

Las características de pegado del almidón se determinan con viscosímetros, los que registran la viscosidad con respecto a cambios de temperatura de calentamiento y enfriamiento; como es el analizador rápido de viscosidad RVA (Rapid Visco Analyzer) (Batey, 2007). La curva de temperatura (perfil de temperatura), la curva de pegado (perfil de viscosidad), y propiedades de pegado obtenidas durante el ciclo de calentamiento y enfriamiento del almidón en un RVA se muestran en la Figura 8.

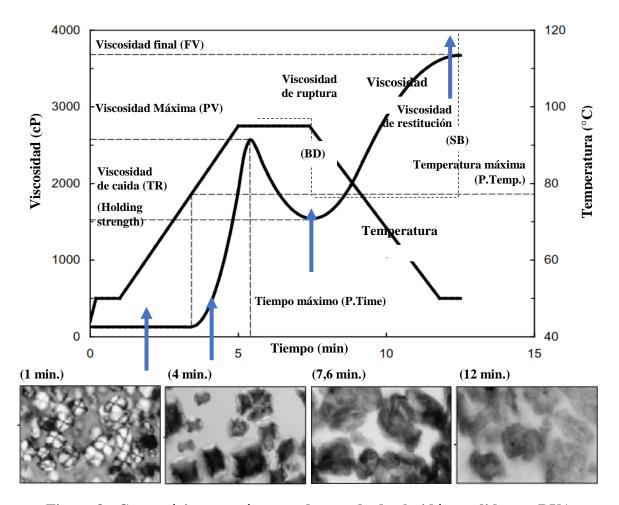


Figura 8: Curva típica y parámetros de pegado de almidón medido con RVA

Fuente: Adaptado de Batey (2007)

Según Batey (2007) el perfil de temperatura para el análisis de almidón a través del RVA comprende una etapa de mantenimiento inicial, una etapa de calentamiento a máxima temperatura, una etapa de mantenimiento a temperatura máxima, una etapa de enfriamiento y una etapa de mantenimiento final. En dicho proceso se identifican las propiedades de pegado, las que incluyen:

- Temperatura de gel o pasta (P. Temp; pasting temperature) (°C): Temperatura inicial de pegado. Es la temperatura mínima, a la cual se inicia el incremento de viscosidad, elevándose por encima de la línea base, durante el calentamiento inicial. Denominada también temperatura de gelatinización, a la cual los gránulos de almidón se encuentran absorbiendo agua y están empezando el proceso de hinchamiento.
- **Viscosidad máxima** (PV, *peak viscosity*) (cP): Viscosidad pico. Es la viscosidad máxima durante la fase de calentamiento o de calentamiento/mantenimiento que se

alcanza al tiempo máximo o pico y a la temperatura máxima. Indica la capacidad de retención de agua en una mezcla o pasta.

- **Tiempo máximo** (P.Time, *peak time*) (min). Es el tiempo en el cual ocurre la viscosidad máxima a la máxima temperatura.
- Viscosidad de caída (TR, trough) (cP): Denominada también fuerza de cohesión (holding strength). Es la viscosidad mínima luego de la viscosidad máxima o pico; por lo que es el menor valor de viscosidad antes del inicio de la retrogradación. Se produce al final del tramo de temperatura constante, antes de que se inicie el enfriamiento, relacionado con la liberación de agua por las moléculas de almidón.
- **Viscosidad de ruptura** (BD, *breakdown*) (cP): Es la diferencia entre la viscosidad máxima y la viscosidad de caída que se produce en el tramo de temperatura constante.
- **Viscosidad final** (FV, *final viscosity*) (cP): viscosidad final en frio, ocurre cuando la pasta se enfría al final de la prueba.
- Viscosidad de restitución (SB, setback) (cP): Es la diferencia entre la viscosidad final
 (FV) y la viscosidad de caída (TR o holdign strenght) al final del proceso de retrogradación.

En el RVA, el almidón se mezcla con agua y permite su hidratación durante el calentamiento, se mantiene constante durante un tiempo específico y luego se enfría para medir las propiedades de pegado del almidón. A medida que el calentamiento continúa, se observa un aumento de la viscosidad por hinchamiento de los gránulos de almidón, lo que refleja el proceso de pegado. La temperatura mínima, a la cual se inicia el incremento de la viscosidad se denomina temperatura de gel o pasta o pegado. La viscosidad se incrementa con el calentamiento continuo hasta que la velocidad de hinchamiento de los gránulos es igual a la velocidad de colapso o ruptura de los gránulos, que se denomina viscosidad máxima (PV). PV refleja el grado de hinchamiento o la capacidad de unión entre el almidón y agua, y se correlaciona con la calidad final del producto desde que los gránulos se hincharon y colapsaron relacionado a la textura del almidón cocido. Una vez que se alcanza PV, se observa una caída en la viscosidad, o de ruptura (Breakdown), como resultado de la desintegración de gránulos. La viscosidad de ruptura es una medida de la facilidad de ruptura de gránulos de almidón hinchado y sugiere el grado de estabilidad durante la cocción (Adebowale y Lawal, 2003). La viscosidad de caída (holding strength), viscosidad de pasta caliente o mínima, marca el final de la etapa de mantenimiento a la máxima temperatura en el RVA. Se inicia la etapa de enfriamiento y nuevamente se incrementa la viscosidad o restitución (setback) originada por la retrogradación del almidón, particularmente la amilosa.

La restitución es un indicador de la textura final del producto y está relacionado con la sinéresis o el llanto durante los ciclos de congelación-descongelación. La viscosidad se estabiliza normalmente a una viscosidad final o viscosidad de pasta fría, que está relacionada con la capacidad del almidón para formar una pasta viscosa o gel después de la cocción y enfriamiento (Wani *et al.*, 2012).

Lindeboom *et al.* (2005), al evaluar las propiedades de pegado o gel del almidón de quinua obtuvieron temperaturas de pegado de 63,0 a 64,0 °C, con un tiempo máximo de 5,1 a 6,9 min, que se correlacionan positivamente con el contenido de amilosa. La viscosidad máxima fue de 3,0 a 25,8 RVU y en general los parámetros de viscosidad (máxima, de caída, final, de ruptura y restitución) se correlacionaron negativamente con el contenido de amilosa. Por otro lado la restitución fue más pronunciada para los almidones de quinua con bajo contenido de amilosa, la misma que pudo deberse a que dichos almidones pudieron tener cadenas de amilosa más cortas, que los otros almidones, con mayor movilidad, y por lo tanto capaces de interactuar con mayor rapidez que las cadenas más largas. Li *et al.* (2016), en almidones de quinua de diferentes procedencias, obtuvieron propiedades de pegado o gel mayores; las temperaturas de pegado fueron de 75,5 a 94,1 °C y la viscosidad máxima de 313 a 474 RVU.

Steffolani *et al.* (2013) determinaron que las diferencias en el contenido de amilosa en los almidones de quinua y kañiwa explican las diferencias entre las propiedades de pegado o gel. Los almidones de kañiwa presentaron niveles mayores de viscosidad *setback* (SB) y retrogradación que los almidones de quinua; asimismo algunas variedades de quinua presentaron viscosidades máximas (PV) más altas y algunos ecotipos de kañiwa presentaron menores niveles en la viscosidad *breakdown* (BD), indicando una alta capacidad de resistencia al calentamiento y al esfuerzo cortante. En la Tabla 5 se muestran las propiedades de pegado o gel del almidón de quinua y de otros cereales.

Tabla 5: Propiedades de pegado o gel de almidones de cereales

Almidón	P.Temp (°C)	PV (RVU)	BD (RVU)	SB (RVU)	FV (RVU)
Quinua ^{a, b, c}	$66,8 \pm 0,49$	$345,5 \pm 24,63$	74,8	145,1	$416,2 \pm 30,05$
Kiwicha ^a	$71,7 \pm 0,56$	$138,5 \pm 12,99$	72,5	42,0	$108,0 \pm 5,54$
Kañiwa ^c	71,1 - 74,7	158,9 - 221,4	19,5 -56,1	86,8 - 111,0	232,3 - 277,7
Maiz ^{b, d}	79,5 -91,0	30,6 57,1	6,0-5,0	5,4 - 69	28,8

 $\overline{1RVU} = 12 \text{ cP}$

PV (Viscosidad máxima), P.Temp. (Temperatura de pegado), P.Time (Tiempo pico o máximo), BD (Viscosidad de ruptura), FV (Viscosidad final), SB (Viscosidad de restitución).

Fuente:

(a) Qian y Kuhn (1999a)

(b) Lindeboom et al. (2005)

(c) Steffolani et al. (2013)

(d) Betancur-Ancona (2001)

2.2.7 Sinéresis del almidón

A medida que el gel de almidón se calienta y enfria, se contrae, causando pérdida de agua y encogimiento; a esto se conoce como sinéresis o llanto (Wani *et al.*, 2012). Asimismo cuando el gel de almidón se almacena durante un tiempo largo ya sea refrigerado o congelado, se produce un aumento gradual de la rigidez a medida que comienzan a formarse cristales y se produce la separación de fases entre el polímero y el disolvente, debido a sinéresis (Karim *et al.*, 2000).

El aumento del porcentaje de sinéresis durante el almacenamiento se ha atribuido a la interacción entre las cadenas de amilosa y amilopectina lixiviadas; ya que la agregación y cristalización de amilosa se completa dentro de las primeras horas de almacenamiento, sin embargo la agregación y cristalización de amilopectina se produce posteriormente (Wani *et al.*, 2012).

La sinéresis de almidones es una propiedad no deseada para el uso del almidón, tanto en la industria alimentaria como no alimentaria. Es un índice del grado de retrogradación del almidón a baja temperatura, la presencia de sinéresis evidencia que las temperaturas por debajo del punto de congelación no son recomendadas para el almacenamiento de pasta de almidón congelada (Wang *et al.*, 2010). Asimismo la estabilidad congelación-descongelación expresada en porcentaje de sinéresis también se utiliza como indicador de la retrogradación del almidón y proporciona una medida de la capacidad de un producto para resistir ciclos de temperatura fría y/o almacenamiento prolongado a bajas temperaturas en geles de almidón (Karim *et al.*, 2000).

2.2.8 Propiedades funcionales de los componentes de la quinua

Las propiedades funcionales de los biopolímeros como el almidón, son importantes en la formulación y producción de alimentos. Estas propiedades están relacionadas con la interacción con el agua, tales como la capacidad de retención de agua (WHC), la capacidad de embeber agua (WIC), solubilidad, viscosidad. Asimismo los polímeros están relacionados con la gelificación, y por último con las propiedades interfaciales como la formación de espuma y capacidad emulsionante. Los polímeros naturales, como el almidón tienen diversas estructuras heterogéneas, estructuras que condicionan su uso en la industria alimentaria. En la Tabla 6 se muestran algunas propiedades funcionales de la harina y almidón de quinua.

Tabla 6: Propiedades funcionales de la harina y almidón de quinua

Productos de la Quinua		Propiedades			
Harina		Solubilidad ^{a,b,c} , capacidad de retención de agua ^{b,c,d} , capacidad de retención de aceite, agente emulsionante y capacidad espumante ^{b,c,d} y gelificación ^{b,c,d}			
Almidón de Quinua		Poder de absorción de agua ^g , solubilidad ^{h,j} , viscosidad ^{h,i} , estabilidad a la congelación y descongelación ^{h,i} , capadidad de unión de agua ⁱ , viscósidad Brabender ^j			
Fuente:	(a) Ruales <i>et al.</i> (1993) (d) Ogungbenle <i>et al.</i> (2009) (g) Tang <i>et al.</i> (2002) (i) Praznik <i>et al.</i> (1999)	(b) Oshodi <i>et al.</i> (1999) (c) Aluko y Monu (2003) (h) Ahamed <i>et al.</i> , (1996a)	(c) Ogungbenle (2003) (f) Abugoch <i>et al.</i> (2008) (i) Lindeboom (2005)		

2.3 LA EVALUACIÓN SENSORIAL EN LA PERCEPCIÓN SEL SABOR

2.3.1 Definición la evaluación sensorial

La División de Tecnología de Alimentos del Instituto de Tecnólogos de Alimentos, define la evaluación sensorial como una "Disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a las características de los alimentos y materiales tal como son percibidos por los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído"; considerando como conceptos globales "alimentos" (ingredientes, bebidas, etc.) y "materiales" (productos para: el hogar, pulido de muebles, cuidado como: shampoo, colorantes para cabello, lápiz labial, etc.) (Stone *et al.*, 2012 e IFT, 1981). Según Meilgaard *et al.* (2015), la evaluación sensorial se lleva a cabo siempre y cuando haya seres humanos que evalúen la bondad y deficiencia de los alimentos, el agua y todo lo demás que se pueda usar y consumir.

Según Lawless y Heymann (2010), los principios y prácticas de evaluación sensorial involucran las cuatro actividades comprendidas en la definición:

- Evocar: La evaluación sensorial establece pautas para la preparación, presentación y servido de muestras bajo condiciones controladas, incluyendo el ambiente de evaluación que minimicen los factores de polarización, para la obtención de juicios propios y precisos sin influencias externas basados en recordar algo percibido, aprendido o conocido.
- Medir: La evaluación sensorial es una ciencia cuantitativa de relaciones específicas entre características de los productos y la percepción, basados en técnicas de investigación conductual de la observación y cuantificación de respuestas humanas, como la discriminación de pequeños cambios en el producto, la proporción de un grupo por la preferencia de un producto sobre otro o las respuestas numéricas reflejando la intensidad de su percepción al evaluar un producto, generado por los panelistas o jueces.
- Analizar: La evaluación sensorial comprende el análisis adecuado de datos generados por los jueces que suelen ser muy variables y las fuentes de variación no pueden ser completamente controladas, como el estado de ánimo, la motivación, su fisiología innata y su historia y familiaridad con los productos similares, por lo que se requiere de métodos estadísticos para su análisis, junto a un buen diseño experimental que permita el análisis adecuado de las variables de interés.
- Interpretar: El último proceso es la interpretación de los resultados de un ejercicio de evaluación sensorial, el cual es necesariamente un experimento, en el que los datos y la información estadística sólo son útiles cuando se interpretan en el contexto de las hipótesis, los antecedentes y las implicaciones para las decisiones y acciones que se tomen, por lo que las conclusiones se deben basar en juicios razonables, datos, análisis y resultados generados por analistas sensoriales competentes.

Kemp *et al.*, 2012 señalan que la evaluación sensorial requiere de otras disciplinas como las ciencias biológicas, la psicología, el diseño experimental y la estadística. El desafío adicional contempla trabajar con el ser humano como instrumento de medición que puede ser muy variable y propenso a sesgo, factores que se deben minimizar a través de la aplicación de la psicología y psicofísica (Meilgaard *et al.*, 2015).

En la evaluación sensorial el papel del analista sensorial comprende la ejecución de siete tareas: (1) Definir el objetivo del estudio (calidad y sustitución de ingredientes, comparación con la competencia, etc.); (2) Determinar el objetivo de la prueba sensorial (diferencia

general o de atributo, preferencia relativa, etc.); (3) Examinar las muestras (todas las propiedades sensoriales a ensayar); (4) Diseñar la prueba (procedimiento a seguir, selección y entrenamiento de individuos, diseño del formato, criterios para la preparación y presentación de muestras y el análisis de datos respetando el diseño del experimento); (5) Realización de la prueba (cumplir con los requisitos del diseño de la prueba), (6) Analizar los datos (uso de programas estadísticos y análisis del efecto principal y variables) y (7) Interpretación e información de los resultados (en función a los objetivos del estudio y de la prueba sensorial) (Meilgaard *et al.*, 2015).

2.3.2 Las pruebas sensoriales

La evaluación sensorial puede ser dividida en dos categorías de pruebas: objetivas y subjetivas (Kemp *et al.*, 2012).

a. Pruebas objetivas o analíticas

Se utilizan en la evaluación de productos en términos de diferencias o similitudes y para la identificación y cuantificación de características sensoriales. Las pruebas analíticas incluyen pruebas discriminativas y descriptivas. Ambas utilizan panelistas entrenados y/o con experiencia (IFT, 1981).

a.1 Pruebas discriminativas

Son las que permiten encontrar diferencias significativas entre las muestras o entre ellas y un patrón, además cuantificarla (Sancho *et al.*, 2002). Comprenden las pruebas de diferencia y de sensibilidad. Las pruebas de diferencia incluyen: de diferencia general (triangulo, dúotrio, diferencia de calificación y diferencia escalar con un control (IFT, 1981), incluidas las pruebas A no A, e "igual-diferente" y de atributo específico (comparación pareada, elección forzada de n-alternativas y ordenamiento) (Kemp *et al.*, 2012); Lawless y Heymann (2010) además incluyen a las pruebas de clasificación, de discriminación ABX y dual estándar. Las pruebas de sensibilidad incluyen: umbral y dilución (IFT, 1981).

a.2 Pruebas descriptivas

Son las que permiten describir, comparar y valorar las características de las muestras en función de unas categorías o tipos (patrones) definidos previamente (Sancho *et al.*, 2002). Las pruebas descriptivas incluyen: calificación de atributos (escala de categorías y escala de proporción-estimación de magnitud) y análisis descriptivo (perfil del sabor, perfil de textura y análisis descriptivo cuantitativo) (IFT, 1981); Kemp *et al.* (2012) incluyen a: perfil de

consenso, del espectro sensorial, perfil de libre elección, perfiles flash, perfil del sabor cuantitativo, diferencia con el perfil de control, método descriptivo de la variación de la intensidad y métodos tiempo intensidad.

b. Pruebas subjetiva o afectivas

Se utilizan para evaluar la preferencia y/o aceptación de productos y/u opinión del producto. Generalmente se requiere un gran número de panelistas, que no son entrenados, pero deben ser seleccionados para representar las poblaciones objetivo o potenciales (IFT, 1981). Kemp *et* al. (2012) clasifican las pruebas afectivas en: pruebas cuantitativas (focus group) y pruebas cualitativas (de preferencia pareada, ordenamiento, calificación con escala hedónica verbal o facial y escala de acción del alimento) (IFT, 1981).

2.3.3 Los seres humanos como instrumentos de medición

a. El jefe del panel o analista sensorial

La evaluación sensorial implica la obtención de información compleja a partir de jueces especialmente entrenados o no, y requiere de un jefe del panel o analista sensorial (Carpenter *et al.*, 2002), que administre el panel de evaluadores: brinde información sobre las muestra a analizar, dirija la sesión, interprete los resultados y motive al panel para un desempeño eficaz y objetivo (INDECOPI, 2014b; Sancho *et al.*, 2002).

b. Jueces sensoriales

Pedrero y Pangborn (1996) señalan que los "instrumentos" principales para efectuar la evaluación sensorial son los órganos sensores y la capacidad integradora de los jueces. Un juez sensorial es un individuo que está dispuesto a participar en una prueba para evaluar un producto valiéndose de su capacidad perceptiva de uno o más de sus sentidos, en forma individual o grupal, como panel de análisis sensorial (INDECOPI, 2014b).

En función al tipo de prueba a realizar, Pedrero y Pangborn (1996) los clasifican en:

- Juez analítico u objetivo (juez). Es el individuo que ha sido seleccionado entre un grupo de candidatos por demostrar una sensibilidad sensorial específica, deseada para un estudio. Debe recibir entrenamiento en el método de evaluación y en las características del producto a evaluar. Se emplean para evaluar diferencias, intensidad y calidades de muestras, por lo que realizan pruebas objetivas (Kemp *et al.*, 2012).
- **Juez afectivo o consumidor.** Es el individuo que es consumidor del producto en estudio y comunicará su aceptación o rechazo de una o varias muestras, el orden de

preferencia entre varias muestras o el nivel de agrado de las muestras. Se emplean en pruebas subjetivas (Kemp *et al.*, 2012).

En función al grado de entrenamiento los jueces sensoriales se clasifican:

- Juez o Catador experto. Persona que tiene gran experiencia en probar un determinado tipo de alimento, posee una gran sensibilidad para percibir las diferencias entre muestras y para distinguir y evaluar las características del alimento, por lo que tienen un entrenamiento largo (Anzaldúa-Morales, 1994), demostrando que son capaces de hacer consistente y repetible las evaluaciones sensoriales (INDECOPI, 2014b).
- Juez entrenado. Persona que posee habilidad para la detección de alguna propiedad sensorial, que ha recibido enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial. Al ser parte de un grupo de evaluación sensorial de un mismo producto (panel) se denomina panelista (Anzaldúa-Morales, 1994). Costell y Durán (1981) los califica como muy adiestrados por su gran precisión y reproducibilidad y realizan pruebas analíticas descriptivas.
- **Juez semientrenado o de laboratorio**. Personas que han recibido un entrenamiento teórico similar al de los jueces entrenados, realizan pruebas discriminativas (analíticas) y solo van a diferenciar entre muestras y no a medir propiedades o usar escalas ya que no han sido entrenados en escalas (Anzaldúa-Morales, 1994); sin embargo pueden realizar pruebas descriptivas con fines tecnológicos y de control de calidad (Costell y Durán, 1981).
- **Catadores seleccionados**. Son personas elegidas por su capacidad de realizar una prueba sensorial (INDECOPI, 2014b).
- **Catadores**. Son las personas que toman parte en una prueba sensorial. Pueden ser catadores novatos, que ya han participado en algunas pruebas (INDECOPI, 2014b).
- Juez consumidor. Persona que no tiene que ver con las pruebas, ni trabaja con alimentos como investigadores o empleados de fábricas procesadoras de alimentos, ni han efectuado evaluaciones sensoriales periódicas. Son consumidores habituales del producto a probar, o como consumidores potenciales de un nuevo producto y deben ser seleccionados (Anzaldúa-Morales, 1994).

2.3.4 Fases de la formación de un panel de jueces sensoriales entrenados

La cualificación y entrenamiento son necesarios para que un juez sensorial represente un instrumento de medida eficaz. En función a lo establecido por Cross *et al.* (1978), Costell y Durán (1981), Sancho *et al.* (2012), INDECOPI (2014b) y Meilgaard *et al.* (2015) se cuenta con 4 fases en la formación de un panel de jueces sensoriales entrenados: preselección, selección, entrenamiento y evaluación del desempeño.

a. Preselección

Es el punto de partida importante en la formación de un panel de catadores (INDECOPI, 2014b). Según Costell y Durán (1981) la preselección no se limita a las exigencias previas respecto a las condiciones fisiológicas y psicológicas de los candidatos. Meilgaard *et al.* (2015) establecen los criterios personales a considerar e incluyen: el interés de participación plena cumpliendo los rigores del entrenamiento, disponibilidad para participar como mínimo en el 80 por ciento del trabajo del panel durante y después del entrenamiento, y buena salud general y ninguna enfermedad relacionada con las propiedades sensoriales que se medirán.

Kemp *et al.* (2012) señalan que la preselección se inicia con la convocatoria a través de anuncios (en papel, en vitrinas, en lugares públicos o entregados en persona o enviados por correo electrónico para llegar de manera eficiente a un gran público objetivo), de boca a boca o recomendación y se realiza a través de:

- Encuestas de preselección. Orientadas a obtener información personal de los candidatos: identificación (nombre, dirección, teléfono, correo electrónico, edad, sexo), salud, hábitos alimentarios, disponibilidad e interés de participación, capacidad de aplicar conceptos abstractos y experiencias sensoriales, así como el grado de actitud positiva (Meilgaard et al., 2015; INDECOPI, 2014b; Watts et al., 1992). Se recomienda que la preselección se realice a un número de candidatos 3 veces mayor al número de jueces entrenados requeridos (Meilgaard et al., 2015).
- **Entrevista personal.** INDECOPI (2014b) señala que la entrevista personal permite establecer el estado de salud así como el interés y disponibilidad del candidato a ser seleccionado. Debe incluir la evaluación de su capacidad de comunicación.
- Orientación a los candidatos. Watts *et al.* (1992) señalan que los posibles panelistas deben ser invitados al área de evaluación sensorial (grupos no mayor a 10), a fin de visitar las instalaciones y mostrar la importancia de las pruebas sensoriales, condiciones de uso y cuidados personales para su participación.

b. Selección

Según Wittig (2001) y Watts *et al.* (1992), la selección permite escoger los candidatos de mayor capacidad discriminatoria dentro de un grupo elegido, siendo importante constatar la veracidad, sensibilidad y reproducibilidad de los juicios y según INDECOPI (2014b) a determinar su potencial para describir y comunicar sus percepciones sensoriales. Se debe realizar partiendo de un número de candidatos 2 ó 3 veces superior al necesario para formar el grupo (Costell y Durán, 1981).

Las pruebas que se emplean en la selección incluyen:

- Selección con pruebas discriminativas. La más utilizada es la prueba del triángulo por su sencillez, facilidad de realización, y objetividad en los resultados (Costell y Durán, 1981; Watts *et al.*, 1992). El número de pruebas triangulares no está determinado, suele oscilar entre 16 a 30 y depende de las características de las muestras, de los candidatos y de la exigencia de la selección. Según Costell y Durán (1981) el criterio para la selección de jueces con pruebas triangulares puede ser:
 - Porcentaje de aciertos. Para 20 a 30 pruebas el nivel de acierto debe ser mayor a 80 por ciento, o si las diferencias no son muy marcadas de 65 a 75 por ciento.
 - Comparación de la habilidad discriminatoria. A través del cálculo de la habilidad discriminatoria relativa.
 - Análisis secuencial. Desarrollado por Wald, permite la calificar a los candidatos en aceptables, rechazables y no definidos y aceptar los de mayor habilidad discriminatoria (Cross *et al.*, 1978).
- Selección con pruebas escalares. A través de escalas de intervalo para cuantificar diferencias entre cuatro repeticiones de muestras y el análisis de varianza individual (Costell y Durán, 1981).
- **Selección con pruebas de detección de estímulos.** Según Kemp *et al.* (2012) se debe evaluar que los candidatos puedan detectar concentraciones o intensidades típicas de estímulos visuales, de olor, sabor y táctiles, a través de:
 - **Prueba de umbral.** A partir de concentraciones crecientes/decrecientes de estímulos de sabores básicos se determina la mínima concentración de detección.
 - **Prueba de ceguera de color.** A través de pruebas de Ishihara o Munsell-Farnsworth para determinar un gran número de impedimentos visuales.
- Selección con pruebas para detectar incapacidad. Se detecta la posible falta de sensibilidad (ageusia o anosmia) de los candidatos a través de pruebas de emparejamiento (INDECOPI, 2014b).

- Selección con pruebas discriminativas entre estímulos. Para evaluar una característica entre pares de muestras, con pruebas discriminativas, determinando la agudeza en la detección. El criterio de selección de candidatos en la prueba del triángulo es un acierto de 50-60 por ciento y en el duo-trío de 70-80 por ciento (Meilgaard *et al.*, 2015).
- Selección con pruebas de reconocimiendo y descripción de estímulos. A través de la evaluación de series de sabores básicos y olores, empleados para describir características en un grupo de productos (Kemp *et al.*, 2012). El criterio incluye la descripción del 80 por ciento de los estímulos empleando términos químicos, comunes o relacionados y el 20 por ciento con términos menos específicos (Meilgaard *et al.*, 2015).
- Selección con pruebas de ordenamiento y clasificación para análisis descriptivo. Empleada para realizar la selección con el producto real a entrenar. Se realiza el ordenamiento de las muestras en función a la intensidad incremental de algunas características de olor, sabor o textura. El nivel de acierto para seleccionar un candidato deber ser como mínimo 80 por ciento (Meilgaard *et al.*, 2015).
- Entrevista personal. Luego de la selección y antes del entrenamiento es necesario una entrevista personal a fin de determinar si los candidatos están bien adaptados a la dinámica de grupo y al enfoque analítico. El objetivo es confirmar el interés del candidato en el entrenamiento, su disponibilidad, comunicación y su personalidad en general (Meilgaard *et al.*, 2015).

c. Entrenamiento

El entrenamiento se diseña con el fin de aumentar la capacidad y confianza en sí mismo de los jueces (Carpenter *et al.*, 2002); el aspecto importante de cualquier secuencia es proporcionar un marco estructurado para el aprendizaje basado en hechos demostrados y permitir que los panelistas crezcan en habilidades (Meilgaard *et al.*, 2015).

INDECOPI (2014b) y Costell y Durán (1981) señalan que el entrenamiento tiene como objetivos principales: (a) familiarizar a los jueces con la metodología sensorial específica; (b) incrementar la habilidad individual para reconocer, identificar, detectar, discriminar, describir y cuantificar los estímulos o atributos sensoriales y (c) mejorar la sensibilidad y la memoria frente a los diversos atributos para conseguir los juicios precisos y consistentes.

Según Watts *et al.* (1992) el entrenamiento debe realizarse partiendo de un número de panelistas seleccionados una vez y media a dos veces superior al número requerido de panelistas entrenados.

El período de entrenamiento suele consistir en una serie de sesiones de 4 a 12, según las necesidades del grupo y del estudio; de 1-1,5 horas de duración, en las que, después de analizar individualmente el producto, los jueces discuten conjuntamente con el director las dificultades encontradas y comentan las calificaciones para aunar criterios y unificar opiniones (Costell y Durán, 1981; Watts *et al.*, 1992). Los paneles para pruebas descriptivas requieren de 40 a 120 horas de entrenamiento, sin embargo el tiempo de entrenamiento depende de la complejidad del producto, número de atributos a evaluar y sobre los requisitos de validez y fiabilidad (un panel más experimentado proporcionará mayor detalle con mayor reproducibilidad) (Meilgaard *et al.*, 2015).

Las pruebas que se emplean en el entrenamiento incluyen:

- Desarrollo de terminología. El líder del panel identifica las variables claves del producto, a través de muestras representativas, para el entrenamiento de los jueces. El panel es introducido a las propiedades químicas (sabor, olor, sensaciones bucales químicas) y físicas (reológicas, geométricas) relativas al producto, para desarrollar conceptos y términos y emplearlos en la evaluación, terminología y referencias para el tipo de producto a evaluar (Meilgaard *et al.*, 2015).
- Entrenamiento en pruebas discriminativas. El entrenamiento en estas pruebas es directa, se requiere más de una familiarización que un entrenamiento profundo, o entrenamiento en el atributo a evaluar. Dependiendo el objetivo se emplean pruebas de comparación, triangular o duo-trio (Kemp *et al.*, 2012).
- Entrenamiento en pruebas descriptivas. El entrenamiento general es dependiente del método específico a ejecutar. El propósito no sólo es mejorar la detección, discriminación y habilidades descriptivas, sino también crear confianza y reducir la ansiedad de cada juez. Los métodos suelen ser los empleados en la selección, con mayor complejidad en las muestras (Kemp *et al.*, 2012).
- **Entrenamiento en la escala de medición.** El método de medición seleccionado debe introducirse en las primeras 10 a 20 horas de entrenamiento. Se emplean un grupo de productos o muestras de referencia que puedan representar diferentes intensidades (3 a 5 niveles) del atributo y se entrena en el uso de la escala, incluyendo el reforzamiento (Meilgaard *et al.*, 2015).

- Otras pruebas de entrenamiento. INDECOPI (2014b) incluyen el entrenamiento en pruebas de detección de estímulo y de gustos y olores especiales, de discriminación entre niveles de intensidad de estímulos, y descripción olfativa, y de textura.
- Entrenamiento final. Supone el empleo de productos alimenticios similares a los que se usarán durante las pruebas reales. Los panelistas deben acostumbrarse a los rangos de intensidades de las características que encontrarán durante el estudio (Watts *et al.*, 1992). El panel continúa con el entrenamiento (15 a 40 horas), realizan discusión de resultados, resuelven problemas y controversias; esenciales para el uso de terminología, procedimiento de evaluación y uso de la escala de medición de forma común o sintonizada, que les caracteriza como un instrumento sensorial (Meilgaard *et al.*, 2015). El entrenamiento final contempla las pruebas de diferencia de evaluaciones, evaluación de clasificación, clasificación y calificación, análisis descriptivo cualitativo y análisis descriptivo cuantitativo (INDECOPI, 2014b).

d. Evaluación del desempeño

Los jueces seleccionados y entrenados, deben ser sometidos a comprobaciones que garanticen la fiabilidad de los resultados a fin de comprobar, periódicamente, la consistencia de cada juez y el funcionamiento del grupo (Costell y Durán, 1981), y que sus evaluaciones son: repetibles, discriminatorias, homogéneas y reproducibles (INDECOPI, 2014b). Se realiza a través de pruebas sensoriales (que incluye la introducción de muestras control en el grupo de muestras a evaluar) y del análisis de resultados que permita la evaluación de la actuación del grupo en conjunto (por ANOVA de un solo o tres factores), así como las actuaciones individuales que en cuyo caso; Kemp *et al.* (2012) señalan que se mide a través de: **la exactitud** (medida de la proximidad de los datos del juez o de la media del panel con respecto al valor real); **la precisión** (medida de cómo los datos de los jueces o del panel son reproducibles, cuán cerca están las repeticiones de las puntuaciones/juicios a los datos medios) y **la fiabilidad/validez** (medida de cuán cerca está la puntuación/juicio de un juez individual con el resto de los jueces y la media del panel).

Meilgaard *et al.* (2015) señalan que para el panel en su conjunto, la validez se puede medir comparando los resultados del panel con datos instrumentales o variación conocida del estímulo con medidas químicas (IFT, 1981). El resultado podría indicar la necesidad de un nuevo entrenamiento (Kemp *et al.*, 2012).

2.4 EL FLAVOR O SABOR EN LOS ALIMENTOS

El flavor o sabor como percepción biológica, es la sensación producida por un alimento tomado por la boca y definido como un atributo que es el agregado de características del flavor o sabor (Fischer y Scott 2000); por lo que es causado por sustancias químicas del alimento (Van der Heijden, 1993), cuya reacción comprende:

Sustancias química activas + ser humano → Respuesta: flavor o sabor

El flavor o sabor se debe a tres sensaciones diferentes generadas a través de los receptores de los sentidos del gusto, tacto (trigeminal) y olfato. Las sensaciones gustativas comprenden: dulce, salado, ácido, amargo y umami o sabroso (propuesta por los Japoneses originada por el glutamato). Las sensaciones trigeminales comprenden: astringencia, picor (picante, pungencia), ardiente, cortante, caliente, frío (recibidas por receptores generales del dolor, táctiles y de temperatura existentes en la boca, nariz y ojos); las sensaciones gustativas y trigeminales ocurren por las sustancias polares, solubles en agua y no volátiles. Las sensaciones olorosas (aromáticas), por interacción física entre el compuesto volátil y el receptor olfatorio, ocurren por vía nasal u oral (retronasal) (Fischer y Scott 2000).

El flavor o sabor se genera en sistemas anatómicamente separados en la boca y naríz (Lawless y Lee, 1993). La Figura 9 muestra un esquema de los sistemas sensoriales y los estímulos involucrados en su percepción.

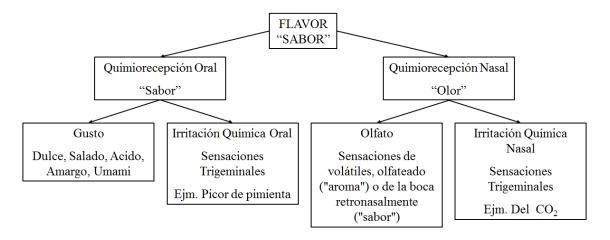


Figura 9: Esquema de los componentes anatómicos del flavor o "sabor"

Fuente: Lawless y Lee (1993)

Las sensaciones químicas orales o gusto originan las cualidades gustativas clásicas (los cinco gustos básicos), y las sensaciones quimiostésicas orales originan por ejemplo el picor (pimienta) y frescura (mentol). Las sensaciones nasales (impresiones olfativas) provienen de la estimulación química (pequeñas moléculas de CO₂ o isotiocinatos de la mostaza) con la parte final del nervio trigeminal en la nariz, y son ejemplos de sabores quimiostésicos en la nariz. Los componentes volátiles, en la boca, no causan sensaciones de gusto, sin embargo originan sensaciones de sabor por el paso retronasal a través de la nasofaringe posterior y hasta el epitelio olfatorio en la dirección inversa a la inhalación, como el caso del carácter a limón del citral. Finalmente el atributo de astringencia, originado por taninos y el alumbre, es más táctil que gustativo; incluye tres componentes: una sensación de sequedad (falta de lubricación salivar); una sensación de raspado (generalmente percibida cuando la lengua entra en contacto con otros tejidos orales como el paladar); y una sensación de arrastre o fruncimiento que resulta del endurecimiento muscular de las mejillas, por lo que caen dentro de los límites de las sensaciones químicas señaladas (Lawless y Lee, 1993).

2.4.1 El gusto en el flavor o sabor de los alimentos

Sancho *et al.* (2002) señalan que el gusto se percibe principalmente por la lengua y por la cavidad bucal (paladar blando, pared posterior de la faringe y la epiglotis). Las papilas gustativas de la lengua registran los cinco gustos o sabores básicos (dulce, salado, ácido, amargo y umami por el L-glutamato en humanos) (Behrens y Meyerhof, 2017). Kemp *et al.* (2012) establecen que diferentes áreas de la lengua pueden responder a todos los gustos, sin embargo algunas áreas son más sensitivas que otras; así se detecta el dulce en la punta, el amargo en el extremo posterior y lo salado y ácido en los bordes; en cuanto al gusto o sabor básico umami, se desconoce aún en que zona de la lengua están localizados los receptores (Sancho *et al.*, 2002). Mattes (2011) sugiere asimismo un componente gustativo involucrado en la percepción de los constituyentes grasos, sin embargo, aún no se ha calificado la percepción orosensorial de la grasa como una modalidad de sabor adicional (Behrens y Meyerhof, 2017).

Carpenter *et al.* (2002), señalan que la sensación del gusto es el resultado del efecto de la interacción entre moléculas hidrosolubles y los receptores localizados en la lengua y cavidad bucal. No es frecuente la pérdida completa del sentido del gusto (ageusia); sin embargo los jueces pueden verse afectados una pérdida parcial (hipogesia) o por determinadas condiciones genéticas, como la ceguera recesiva al flavor metálico del feniltiocarbamida (PTC).

2.4.2 Gusto o sabor amargo y sustancias amargas

La mayoría de moléculas del sabor amargo en los alimentos humanos tienen orígenes vegetales, a menudo participantes de su defensa contra plagas, insectos y herbívoros (Laffitte *et al.*, 2017). Asimismo el sabor amargo ha evolucionado para permitir a los animales detectar toxinas, sin embargo no todos los compuestos de sabor amargo son tóxicos (Liman *et al.*, 2014).

Dentro de los alimentos con moléculas amargas se tienen a las verduras como achicoria, acelgas, endibias, alcachofas, brócoli o espárragos; bebidas preparadas de plantas como café, té verde, vino, cerveza o chocolate sin azúcar. Algunos compuestos amargos pueden provenir de la elaboración de alimentos, como el originado por bacterias en la producción de cerveza, vino, queso, salsa de soja u otros alimentos fermentados (Hagedorn y Kaphammer, 1994; Van der Heijden, 1993). Asimismo los reportados durante el procesamiento de quesos por acción bacteriana sobre proteínas o por reacciones químicas como la reacción Maillard o después del almacenamiento de alimentos en frío por efecto de la oxidación (Laffitte *et al.*, 2017).

Los compuestos amargos, son el grupo más complejo, poseen en su estructura, grupos de lactonas sesquiterpénicas, aminoácidos, péptidos, aminas, amidas, carbamidas, flavonoles, piranósidos, compuestos fenólicos y alcaloides, terpenos, ésteres, lípidos, sales y glucósidos, que para ser percibidos por el ser humano éste posee numerosos receptores de sabor amargo (Laffitte *et al.*, 2017; Hoehn y Baumgartner, 2017; Van der Heijden, 1993).

En la Tabla 7 se presenta un conjunto de sustancias amargas, clase química y fuente de alimentos así como sus umbrales de detección; en la Tabla 8 se muestra un grupo de fitonutrientes amargos en frutas y verduras, dentro de ellos las saponinas, también presentes en la quinua.

Tabla 7: Sustancias amargas en alimentos y umbrales de detección

Sustancia	Clase química	Alimento y concentración	Umbral de detección
Cloruro de potasio	Sal	Queso de cabra (5-20 g/kg)	5 mM
L-Trp	Amino ácido	Trigo (70 g/kg)	4-6 mM
NALPE	Péptido	Soya (n.d.)	74 μΜ
Ácido linoleico	Ácido graso	Semilla de amapola (n.d.)	4-6 mM
Sacarina	Edulcorante artificial	Bebidas dulces (20–270 mg/L)	0,3 mM
Queracetina	Flavonol	Alcaparras (2,3 g/kg) Cebolla (0,32 g/kg)	1,7 mM
Naringina	Flavanona	Jugo de pomelo (300-750 mg/L) Jugo de oroblanco (346-489 mg/L)	56 μΜ
Teobromina	Alcaloide	Cacao en grano (20-30 g/kg)	25 μΜ
Quinina	Alcaloide	Bebidas tónicas (80 g/L)	0,8-1,2 mM
Cafeina	Alcaloide	Café (10-20 g/L)	n.d.
Catechina	Flavonoides fenólicos	Vino rojo (1,0-3,5 mg/L)	14 mM
Genistein	Isoflavona	Soya (24-40 mg/kg) Tofu (29-78 mg/L)	0,64 mM
Limonina	Aglicona limonoide	Jugo de limón (12,2 mg/L) Jugo de naranja (9,7 mg/L)	0,3-12,5 mM
Sinigrina		Coles de Bruselas (110-1560 mg/kg)	14 μΜ
Humulona		Cerveza (15-100 mg/L)	8 μΜ

n.d. = no descrito Fuente: Laffitte *et al.* (2017)

Tabla 8: Fitonutrientes amargos en frutas y verduras

Clase de fitonutrientes	Sustancia (Nombre común)	Género	Mercancía
Glucosinolatos	Amigdalina	Rosacea	Almendra Albaricoque Baya Saskatoon
Glicoalcaloides	Sinigrina, Progoitrina	Brassica	Col, brócoli, coles de Bruselas, coliflor, nabo, col rizada, col rizada china, col china
Glucósidos cianogénicos	α-Solanina α-Chaconina β ₂ -Chaconina Solanidina Tomatina	Solanum	Papa
	Tomatma		Berenjena
Fenólicos	Flavonoides Ácidos fenólicos Flavonas Flavanolas Queracitina		.
		Daucus	Zanahoria
		Brassica	Coliflor
		Solanum	Berenjena
		Citrus	Pomelo, Naranja
		Malus	Manzana
D 11 (11	T 1 ' 1	Cichorium	Endibia
Poliacetilenos	Falcarinol	Daucus Foeniculum	Zanahoria
		Pastinaca	Hinojo Chirivía
Triperpenos	Limonina, Nomilina	Citrus	Naranja, pomelo, limón,
Triperpenos	Cucurbitacina B y E	Cucurbitacea	pepino, pepinillo,
	Caearonaema B y E	Chem shacea	calabacín, squash,
			calabaza, melón
Saponinas	Asparasaponina, Protodicosina, Neoprotodicosina, Dicosina, Matil protodicosina	Asparagus	Espárragos
Lactonas	Metil protodicosina Lactucina	Cichorium	Lechuga, escarola
sesquiterpéni-	Lactucopicrina	Lactuca	Achicoria
cas	Cinaropicrina	Cynara	Alcachofa

Fuente: Hoehn y Baumgartner (2017).

Sancho *et al.* (2002) señalan que a nivel estructural se ha establecido la unidad AH/B, como característica típica de los compuestos del sabor amargo, además de un tercer componente "X", de forma que debe existir una estructura AH/B/X, donde A y B son átomos electronegativos (como oxígeno, nitrógeno, o cloro), H es un átomo de hidrógeno y X un resto apolar de la molécula. Los receptores del sabor amargo en la lengua, tienen una organización complementaria, de forma que entre las estructuras AH/B de la molécula amarga y el receptor se pueden formar enlaces por puente de hidrógeno, mientras que el resto apolar X pasa a una especie de bolsa del receptor (Figura 10). Para que un compuesto tenga sabor amargo la separación entre A y B debe ser entre 1,0 a 1,5 Ångström (Å), menor que para el dulce de 2,5 a 4 Å.

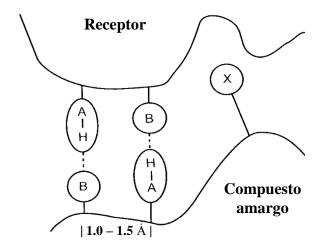


Figura 10: Esquema de la estructura AH/B/X de los compuestos amargos

Fuente: Sancho et al. (2002)

2.5 ANATOMÍA DEL SENTIDO DEL SENTIDO GUSTO

Las células receptoras del gusto se encuentran confinadas en botones gustativos, estructuras en forma de copa que se encuentran en pequeñas elevaciones de la lengua denominadas papilas y en los mamíferos sólo se localizan en la boca (Fisher y Scott, 2000).

2.5.1 Las papilas y células gustativas

Van der Heijden (1993) clasifican a las papilas gustativas de la lengua, como se muestra en la Tabla 9. En la Figura 11 se presenta la distribución de las papilas gustativas en la cavidad bucal y los gustos básicos que principalmente detectan.

Tabla 9: Papilas gustativas humanas

-	Ubicación	Número			Create	
Nombre	en la lengua	Papilas	Papilas Botones Células gustativos¹ gustativas		Nervio	Gusto principal
Circunvalada (Calicifor- mes)	Forma de V en la parte posterior	8-12	2200 (Cada una con media de 250)	1000-1500	Nervio Glosofarín- geo (IX)	Amargo
Foliada	Borde lateral	15-20	1500 (Cada una con una media de 100)	150-200	Cuerda del tímpano y Nervio Glosofarín- geo (IX) ²	Ácido o agrio
Fungiforme	Extendido por todas partes: punta y márgenes laterales	200	600 (Cada una: 0-36 media = 3)	300-400	Cuerda del tímpano y ramas del Nervio Facial (VII) ²	Dulce, salado
Filiforme	Extendido por todas partes: punta y márgenes laterales	1000	ninguno	ninguna		ninguna

Fuente: Van der Heijden (1993), (1) Fisher y Scott (2000), (2) Behrens y Meyerhof (2017).

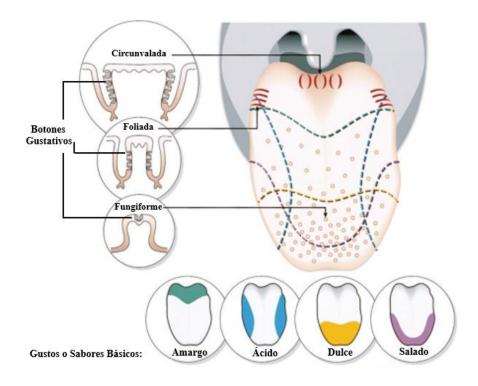


Figura 11: Papilas gustativas humanas, distribución y corte transversal

Fuente: Hoon et al. (1999)

Las papilas fungiformes (forma de champiñón: yemas en forma de pera, con poro y microvellosidades) cubren los dos tercios anteriores de la lengua, las foliadas (forma de hoja) se encuentran a lo largo de los bordes laterales de la lengua en forma de cinco o seis pliegues verticales en la superficie del epitelio, las circunvaladas o caliciformes (rodeadas por una zanja), con botones gustativos en las hendiduras que las delimitan, son prominencias situadas en la parte posterior de la lengua donde forman una especie de uve invertida y las filiformes (forma de hebra) se encuentran en la superficie de la lengua, proporcionan textura rugosa y no están relacionadas con el gusto (Fisher y Scott, 2000).

El total de botones gustativos en las papilas de la lengua son aproximadamente 4600 (Según Witt y Reutter, 2015: 48 por ciento ó 2200 en circunvaladas, 28 por ciento ó 1280 en foliadas y 24 por ciento ó 1120 en fungiformes); y aproximadamente otros 2000 se localizan en el paladar blando, la laringe, la faringe y la epiglotis (Fisher y Scott, 2000). La sensibilidad gustativa del hombre es directamente proporcional a la densidad de los botones, la cual varía en un factor de 100 entre los distintos individuos (Behrens y Meyerhof, 2017).

Las células gustativas que forman un botón gustativo oscilan entre las 50 a 150, se cuenta con cuatro tipos, cuyas características se muestran en la Tabla 10 y se representan en la Figura 12. Las células gustativas son renovadas continuamente entre 10 y 14 días (Van der Heijden, 1993).

2.5.2 Mecanismos de transmisión de las células gustativas hacia el cerebro

El mecanismo de transmisión se basa en la activación de las células gustativas por las substancias químicas que se difunden a través del poro que forman los botones gustativos. El potencial que se desarrolla en la célula sensible, activa a su vez las terminaciones nerviosas sensoriales (Sancho *et al.*, 2002).

Las células reciben la inervación de las fibras aferentes, por el lado basolateral, de un tipo de los nervios craneales responsables de la sensibilidad gustativa (combinan información del gusto, tacto, temperatura y sensaciones dolorosas) (Fisher y Scott, 2000), facilitando la transmisión de la información del gusto periférico al sistema nervioso central (Miller, 1995, citado por Behrens y Meyerhof, 2017). Sin embargo las células gustativas son receptoras sensoriales secundarias, no tienen axones propios y están conectadas por sinapsis basales a las fibras gustativas que corren hacia el sistema nervioso central (Van der Heijden, 1993).

Una fibra nerviosa puede llevar impulsos de varios botones gustativos y el conjunto de estas fibras nerviosas se reúnen en tres nervios (Sancho *et al.*, 2002), que incluyen: el Nervio

Tabla 10: Células de los botones de las papilas gustativas

Denominación	Características morfológicas	Ubicación	Características funcionales	Gustos o sabores básicos
Célula oscuras (Tipo I) ^{1,2,3}	Alargadas y bipolares¹.	Se extiende desde la base del botón hasta la superficie de la lengua, enviando finas microvellosidades a través del poro gustativo para explorar el ambiente ¹ .	Células receptoras en distintos grados de desarrollo ¹ . Ejercen funciones tipo glía-like (progenitor primario de células) ³ .	Detección de estímulos salinos ⁵ .
Células claras (Tipo II) ^{1,2,3}	Alargadas y bipolares ¹ .	Se extiende desde la base del botón hasta la superficie de la lengua, enviando finas microvellosidades a través del poro gustativo para explorar el ambiente ¹ .	Células receptoras en distintos gra-dos de desarrollo ¹ . Albergan a componentes de la cascada de señalización acoplada a la proteína G (GPCR: G Protein Coupled Receptor), proteína que se expresa en las células Tipo II para un sabor específico) ³ .	Forman subpoblaciones discretas dedicadas a detectar estímulos Dulces, Umami o Amargos ⁴ .
Células primarias quimiorrecept oras (Tipo III) ³	Alargadas y bipolares ³ .	Se extiende desde la base del botón hasta la superficie de la lengua, enviando finas microvellosidades a través del poro gustativo para explo-rar el ambiente ¹ .	Representan el único tipo celular que expresa los constituyentes de la maquinaria de liberación de vesícula sináptica ³ .	Actúan como sensores ´- Ácidos específicos ⁵ .
Células basales ^{1,2} (Tipo IV) ³	Pequeñas y redondas ¹ .	Base del botón gustativo ¹ .	Células progenitoras de las que nacen las neuronas receptoras ¹ . Pueblan las papilas gustativas y se cree que representan células madre que reponen tipos de células maduras que cambian rápidamente ³ .	

Fuente: (¹) Fisher y Scott (2000), (²) Van der Heijden (1993), (³) Chaudhari y Roper 2010, (⁴) Yarmolinsky *et al.* (2009) y (⁵) Huang *et al.* (2006)

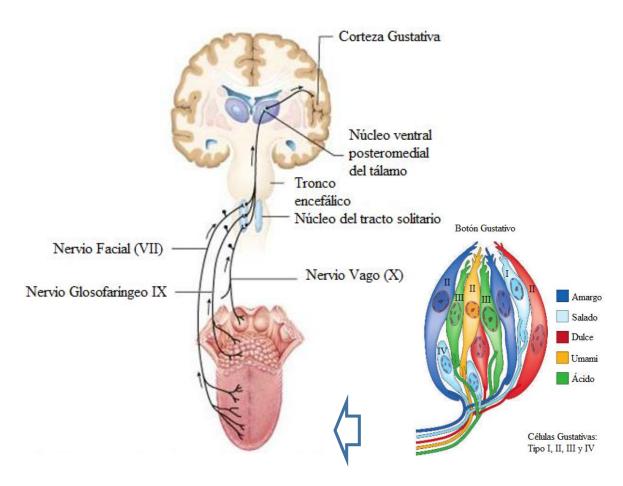


Figura 12: Conexión de células de los botones de las papilas gustativas al cerebro

Fuente: Chandrashekar et al. (2006)

Glosofaríngeo (IX) por el tercio posterior de la lengua (papilas circunvaladas y foliadas), el Nervio Vago (X) por la garganta, laringe y faringe, y el Nervio Facial (VII) a través de la Cuerda del Tímpano por los dos tercios frontales de la lengua (papilas fungiformes de la lengua apical y del paladar blando) (Van der Heijden, 1993; Behrens y Meyerhof, 2017).

Según Fisher y Scott (2000) las fibras abandonan la lengua como parte del Nervio Trigémino (V) e ingresan al **bulbo raquídeo** (núcleo del tracto solitario - NTS) en el tronco encefálico y contribuyen a reflejos somáticos de aceptación o de rechazo de sustancias químicas y sólo el 20 por ciento de células gustativas del NTS se proyectan hacia delante del cerebro alcanzando el complejo ventronasal medial del **tálamo** en la parte *parvocelular del núcleo ventroposterior medial* (VPMpc), de las que un tercio de las neuronas comprenden las células gustativas. Desde el VPMpc los axones gustativos se proyectan hacia la **corteza gustativa** y **proencéfalo ventral (centro receptor del gusto)**, representando el 5 por ciento del total de las neuronas y responsables de la percepción de los gustos o sabores básicos; en combinación con las demás responsables del movimiento de la boca, tacto y temperaturas

bucales, extensión de la lengua y anticipación de la aproximación de un estímulo gustativo (Behrens y Meyerhof, 2017).

2.5.3 Receptores de las células gustativas del sabor amargo

En los seres humanos la percepción de los cinco gustos básicos (dulce, salado, ácido, amargo y umami) se encuentra mediada por dos grupos de genes receptores del gusto, presentes en las células gustativas, acoplados a la proteína G: Taste 1 (TAS1R) y la familia de Taste 2 (TAS2R) (Liman *et al.*, 2014). En las células receptoras, separadas espacialmente, los genes TAS1R muestran expresión dominante en las papilas fungiformes de la lengua anterior, mientras que los genes de la familia TAS2R se expresan principalmente en las papilas gustativas de la parte posterior (circunvaladas); asimismo dentro de un botón gustativo, las células gustativas receptoras prácticamente nunca expresan ambos genes (Hoon *et al.*, 1999).

El gran número y diversidad estructural de sustancias amargas es reconocido por la familia de genes TAS2R (TASTE 2 o TR2) (Adler *et al.*, 2000). Según Liman *et al.* (2014), cada célula receptora del sabor amargo expresa múltiples tipos de receptores; sin embargo, no todos los receptores amargos son expresados por todas las células.

Los genes TAS2R funcionales fluctúan ampliamente entre especies de 3 a 49 (Liman *et al.*, 2014). El repertorio de genes TAS2R en el ser humano es de tamaño medio, equivalente a 25 receptores funcionales del sabor amargo, de los cuales 21 se han asociado con la activación de sustancias amargas (Meyerhof *et al.*, 2010). Los genes TAS2R se encuentran en los cromosomas 5, 7 y 12 (Bufe *et al.*, 2002), como se muestra en la Figura 13.

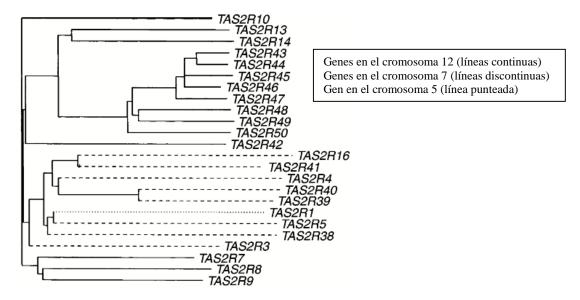


Figura 13: Dendograma de la relación de la familia de genes TAS2R en el ser humano

Fuente: Bufe et al. (2002)

Basándose en los perfiles agonistas observados (capacidad de aumentar la actividad que realiza otra sustancia), los receptores se agrupan en subgrupos de reconocimiento: numeroso (generalistas), intermedio y poco (especialistas). Los receptores con mayor perfil agonista son TAS2R10 (Bufe *et al.*, 2002), TAS2R14 y TAS2R46; con los tres se reconoce el 50 por ciento de todas las sustancias amargas (Meyerhof *et al.*, 2010), por lo que se les denomina receptores "generalistas", que contribuyen fuertemente a la capacidad general del ser humano para percibir el sabor amargo.

Asimismo se ha reportado que los receptores TAS2R3, TAS2R5, TAS2R8, TAS2R13, TAS2R41, TAS2R49 y TAS2R50 reconocen muy pocos compuestos amargos y se denominan "especialistas". Todos los demás TAS2Rs humanos identifican un número intermedio de sustancias amargas y, representan el grupo más grande (Behrens y Meyerhof, 2017).

En las Tablas 11 y 12 se presentan los genes de la familia TAS2R y las sustancias amargas naturales y artificiales que reconocen.

Tabla 11. Identificación de 58 compuestos amargos naturales por genes hTAS2Rs

N°	Compuesto amargo	Genes hTAS2R	N°	Compuesto amargo	Genes hTAS2R
1	Absinthin	10, 14, 46, 47	30	Ginkgolide A	
2	2-Acetylpyracine		31	Grossheimin	43, 46
3	Aloin	43, 44&	32	Helicin	16, 43
4	Allylisothiocyanyte	38	33	Humulone isomeres	1, 14, 40
5	Amarogentin	1, 4, 39, 43, 46, 47, 50	34	Limonin	38
6	Amygdalin, D.	16	35	Naringin	
7	Andrographolide	46, 47, 50	36	Neohesperidine	
8	Arborescin	1, 4, 10, 14, 43, 46	37	Nicotin	
9	Arbutin	16	38	Nimbin	
10	Arglabin	10, 14, 43, 46	39	Noscapine	14
11	Aristolochic acid	14, 43, 44	40	Ouabain	
12	Artemorin	4, 10, 14, 46, 47	41	Papaverine	7, 10, 14
13	Brucine	10, 46	42	Parthenolide	1, 4, 8, 10, 14, 44, 46
14	Campher	4, 10, 14, 47	43	Picrotoxinin	1, 10, 14, 46, 47
15	Caffeine	7, 10, 14, 43, 46	44	Phenylethyl isothiocyanate	38
16	Cascarillin	1, 10, 14, 46, 47	45	Quassin	4, 10, 14, 46, 47
17	Chloramphenicol	1, 8, 10, 39, 43, 46	46	Quinine	4, 7, 10, 14, 39, 40, 43, 46
18	Cricin	46	47	Riboflavin	
19	Colchicine	4, 39, 46	48	D-salicin	16
20	Coumarin	10, 14	49	Sinigrin	16, 38
21	Crispolide	46	50	Solanine alpha	
22	Cucurbitacin B	10,14	51	Solanidine	
23	Cucurbitacin E	10	52	Strychnine	7&, 10, 46
24	Curcumin		53	L-sulforaphane	
25	Digitonin		54	Taurine	
26	Emetine		55	Tatridin B	46
27	Erythromycin	10	56	Thiamine	1, 39
28	Ethylpyrazine	38	57	Thujon	10, 14
29	Falcarindiol	14,43	58	Yohimbine	1, 4, 10, 38, 46

Fuente: Adaptado de Meyerhof et al. (2010)

Tabla 12: Identificación de 46 compuestos amargos artificiales por genes hTAS2Rs

N°	Compuesto amargo	Genes hTAS2R	N°	Compuesto amargo	Genes hTAS2R
1	Acesulfame K	43, 44	24	Doxepin	
2	Acetaminophen	39	25	N-ethylthiourea	38
3	Acetylthiourea	38	26	N,N-ethylene thiourea	38
4	Antipyrin		27	Famotidine	14, 44
5	Azathioprine	4, 10, 14, 39, 46	28	Fenspiride	
6	Benzamide	14	29	Flufenamic acid	14
7	Benzoin	10, 14	30	Haloperidol	10, 14
8	Caprolactam	38	31	Hydrocortisone	46
9	Carisoprodol	14, 46	32	4-Hydroxyanisol	14
10	Chlorhexidine	14	33	Methimazole	38
11	Chloroquine	3, 7, 10, 39	34	4(6)-Methyl-2- thiouracil	38
12	Chlorpheniramine	4, 7, 10, 14, 38, 39, 40, 46	35	Methylthiourea	38
13	Cromolyn	7, 43, 49	36	Metronidazole	
14	Cycloheximide	10	37	Naphazoline	
15	Dapsone	4, 10, 40	38	Orphenadrine	46
16	Denatonium benzoate	4, 8, 10, 13, 39, 43, 46, 47	39	Oxolinic acid	
17	Dextromethorphan	1, 10	40	1,10-Phenanthroline	5
18	Dihydrophenanthrene		41	Phenylthiocarbamide	38
19	Dimethyl thioformamide	38	42	Propylthiouracil	4, 38
20	Diphenhydramine	14, 40	43	Saccharin	8, 43, 44
21	Diphenidol	1, 4, 7, 10, 13, 14, 16, 38, 39, 40, 43, 44, 46, 47, 49	44	Sodium benzoate	14, 16
22	Diphenylthiourea	1, 14, 38	45	Sodium cyclamate	1, 38
23	Divinylsulfoxid	14	46	Sodium thiocyanate	1,38

Fuente: Adaptado de Meyerhof et al. (2010)

En los receptores intermedios, se ha demostrado que el TAS2R16 (Bufe *et al.*, 2002) y TAS2R38 (Bufe *et al.*, 2005) reconocen características químicas específicas dentro de sus moléculas agonistas, mientras que el TAS2R16 es activado por β-D-glucopiranosidos (Bufe *et al.*, 2002), el TAS2R38 reconoce la fracción-NCS de compuestos isotiocianatos/tiourea (Bufe *et al.*, 2005); a pesar que son genes especialistas, reconocen un gran número de sustancias agonistas amargas.

En relación a la familia de genes TAS2R en el ser humano, Lattiffe *et al.* (2017) señalan que la divergencia de la percepción del sabor amargo en y entre las poblaciones así como la variabilidad de la sensibilidad individual, es debido a los polimorfismos genéticos de los receptores, tal es el caso de la diferencia en la percepción de las moléculas de tiourea, específicamente la Feniltiocarbamida (PTC) y 6-n- Propiltiouracilo (PROP).

En cuanto a la percepción, la PTC y PROP no son percibidos por el 30 por ciento de la población y son percibidos como moderado a muy amargo por el 70 por ciento restante. En

relación a la etnia, la gente del Asia o África es más sensible que la Caucásica y en cuanto al género, las mujeres son más sensibles a estas moléculas amargas que los hombres (Drewnowski *et al.*, 2001a).

Behrens y Meyerhof (2017) señalan que de los genes TAS2R que se ven afectados por numerosos polimorfismos genéticos, el más famoso es el TAS2R38 que presenta polimorfismo genético funcional de un único receptor, que implica:

- 1° Las personas se desvían en la sensibilidad perceptiva hacia las sustancias amargas sintéticas Feniltiocarbamida (PTC) y 6-n-Propiltiouracilo (PROP).
- 2° La diferencia en las sensibilidades entre los portadores de variantes de genes sensibles (Variante de Catador) y las variantes insensibles (Variante de No Catador) son más pronunciadas, ya que la variante del receptor No Catador (TAS2R38-AVI) es realmente no funcional, mientras que la variante del Catador (TAS2R38-PAV) es muy específica y sensible a PROP y PTC (Bufe et al., 2005).
- 3° Ambas variantes ocurren con alta frecuencia en la población humana y por lo tanto existen grandes fracciones de Catadores PROP/PTC y No Catadores (Wooding et al., 2004). La evaluación del polimorfismo del gen TAS2R38 en las personas permite clasificarlas en Catadores y No Catadores del sabor amargo, importante en la calificación de jueces sensoriales entrenados en su evaluación.

Asimismo se han reportado otros polimorfismos funcionales en genes receptores de sabor amargo que afectan a los receptores TAS2R9, TAS2R16, TAS2R31 y TAS2R43 (Behrens y Meyerhof, 2017).

2.5.4 Acceso del estímulo a los receptores del sabor amargo

La mayoría de estímulos del sabor amargo son solubles en agua y no volátiles, son liberados durante la masticación, y acceden a los receptores gustativos a través de la saliva y el moco que los recubre. La saliva, caldo compuesto por agua, electrolitos, proteínas y moco, es segregado por las glándulas salivares mayores (parótida, submandibular, sublingual) y por las glándulas de von Ebner alojadas en los botones de la profundidad de las papilas foliadas y circunvaladas. Las secreciones de las principales glándulas bañan completamente la cavidad bucal y crean un entorno químico global en el que se produce la transducción gustativa, ya que las secresiones de las glándulas de von Ebner es posible que suministren la proteína capaz de transportar las moléculas a su destino (Fisher y Scott, 2000).

2.5.5 Transducción de señales del sabor amargo

Según Fisher y Scott (2000), los mecanismos de transducción para los cinco gustos básicos se analizan independientemente, a pesar de que las células receptoras individuales suelen responder a una amplia gama de estímulos gustativos. En el caso del sabor amargo la eficacia de la transducción depende de una secuencia de pasos que se representan en la Figura 14:

1° Acceso de los estímulos a las áreas de recepción

La transducción de la señal del sabor amargo en las células gustativas del tipo II, se da entre la sustancia amarga y los receptores que se acumulan en la superficie celular de las microvellosidades (Behrens y Meyerhof, 2017).

Según Chaudhari y Roper (2010), en las microvellocidades los receptores gustativos se encuentran en dos formas:

- Como proteínas receptoras G (GPCR: G Protein Coupled Receptors, proteínas integrales de la membrana plasmática con siete dominios transmembrana, son neurotransmisores de detección y señales de estímulos sensoriales), o
- Como canales de iones.

2° Nivel de reconocimiento una vez producido el acceso del estímulo.

A nivel específico, los estímulos o compuestos amargos (agonistas), presentes en la cavidad oral, entran en contacto con los receptores del sabor amargo, las proteínas TAS2R (GPCRs); dando lugar a la activación de los receptores (un solo compuesto amargo es capaz de activar múltiples TAS2R y cada TAS2R puede ser activado por múltiples compuestos amargos) (Meyerhof *et al.*, 2010). Como todas las GPCRs, las TAS2Rs contienen siete transmembranas (TMs) con segmentos helicoidales, tres bucles extracelulares (ECL) y tres bucles intracelulares (ICL), con un terminal corto extracelular "N-" y un intracelular "C-"; los TAS2R no se asocian con N-terminal largo (Upadhyaya *et al.*, 2017).

Los receptores del sabor amargo son activados en la subunidad α -gustducina de la proteína G, complementándose con otras subunidades $\beta3$ y $\gamma13$ y en menor grado la $\beta1$, presentes en las células receptoras del gusto. Después de la activación de la proteína G heterotrimérica, las subunidades β y γ son capaces de inducir la activación de la fosfolipasa C $\beta2$ (PLC $\beta2$), dando como resultado la producción de diacilglicerol (DGA) e Inositol 1,4,5 Trisfosfato (IP₃) (Behrens y Meyerhof, 2009).

La ruta común para liberar el transmisor requiere un incremento intracelular de Ca²⁺, vía proteína receptora G (por liberación del Ca²⁺ secuestrado dentro de la misma célula) o canales de iones (a través de canales de Ca²⁺) (Fisher y Scott, 2000).

Vía la proteína receptora G, el siguiente paso en la cascada es la unión de IP₃ a su receptor, el IP₃ 3R, localizado en la membrana del retículo endoplasmático de la célula del gusto (ER). Este ligando activa y apertura el canal de calcio y conduce el flujo de iones de calcio (Ca²⁺) desde el lumen del ER hacia el citosol (Behrens y Meyerhof, 2009).

3° Propiedades eléctricas de las células receptoras

El incremento de iones de Ca²⁺ conduce a la despolarización en el interior de la célula y cambios en la conductancia de la membrana celular. Vía proteína receptora G mediada por la Guanosina Trifosfato (GTP) y vía canales de iones por despolarización directa (Fisher y Scott, 2000).

En la despolarización, el incremento de iones de calcio citosólicos intracelulares aperturan el canal de cationes subtipo 5 melastantina del potencial transitorio del receptor (TRPM5: Transient Receptor Potential Melastatin subtype 5) (Behrens y Meyerhof, 2009).

4° Eficacia de la transmisión sináptica a los nervios periféricos

Según Fisher y Scott (2000), la despolarización es transmitida pasivamente desde la porción superior hasta la inferior de la célula gustativa, donde ésta tiene la responsabilidad de liberar el neurotransmisor e iniciar un potencial de acción en el nervio. Por lo tanto la despolarización celular se asocia con la liberación de ATP, "el neurotransmisor" de sabor de los receptores de células gustativas Tipo II, a través de hemicanales (CALHM1) en su superficie celular. El ATP que se libera actúa exitando directamente a las fibras de los nervios aferentes que terminan cerca de las proximidades de las células receptoras de sabor, que a través de receptores (P2X2/P2X purinérgico heteromérico) median la transmisión de la señal hacia el sistema nervioso central), para su posterior reconocimiento a nivel cerebral (Behrens y Meyerhof, 2017).

Dicho reconocimiento en el cerebro se basa en la hipótesis de que la actividad de cada célula es interpretada como una respuesta que corresponde a un sabor en particular, denomina "teoría de la línea marcada del código neural gustativo", porque cada axón del nervio periférico es interpretado como transmisor de un único sabor básico (Fisher y Scott, 2000), en este caso del sabor amargo.

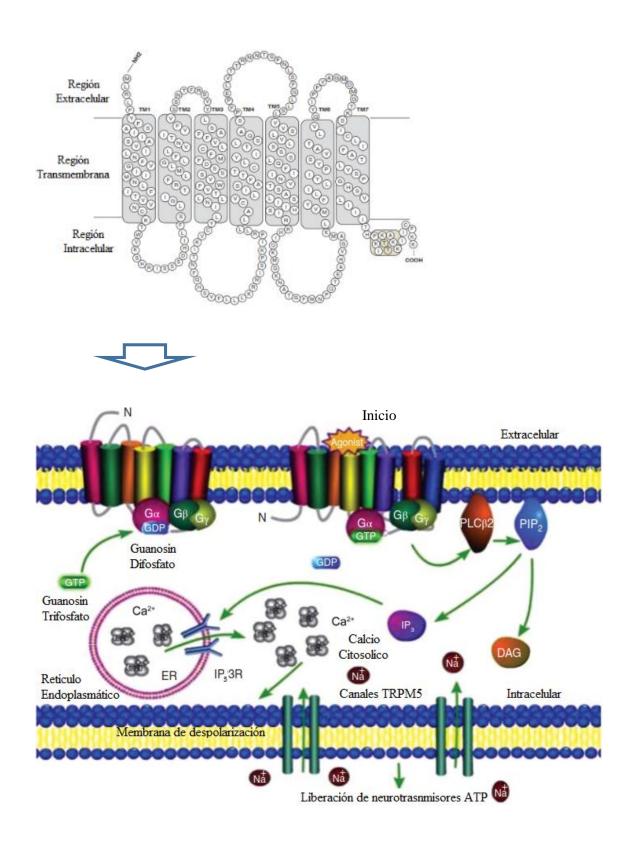


Figura 14: Cascada de transducción de señales del sabor amargo

Fuente: Adaptado de Upadhyaya et al. (2017)

2.6 POLIMORFISMO INDIVIDUAL EN LA DIFERENCIA DE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO

2.6.1 Evaluación del estado del catador de PROP (6-n-propiltiouracilo) y del poliomorfismo individual

Uno de los sabores más estudiados ha sido el amargo, primero con la Feniltiocarbamida (PTC) y luego con el 6-n-Propiltiouracilo (PROP). Los estudios han evidenciado la existencia de diferencias anatómicas (densidad de papilas gustativas) y genéticas (receptores especializados) en las personas, permitiendo clasificarlas en catadores y no catadores (Lawless, 1980).

La habilidad para percibir este sabor primero fue realizada a través de la medición de umbrales y actualmente, es comúnmente, determinada por el procedimiento de estimación de magnitud (Martínez-Ruiz *et al.*, 2014). Tepper (1998) y Drewnowski *et al.* (2001b), señalan que los catadores PROP tienen una mayor sensibilidad hacia los estímulos orales, incluyendo el sabor amargo asociado a ciertas frutas y vegetales, el sabor dulce de varios azúcares, sensaciones de textura por grasas y la irritación trigémina debida al chile o ají, la pimienta o el alcohol (etanol) en comparación con los no catadores.

Orrú *et al.* (2015) señalan que la clasificación de individuos en súper catadores (umbral 1.0×10^{-4} mol/L), catadores medios (umbral $> 2.0 \times 10^{-4}$ mol/L) o no catadores, muestra una correlación significativa en la diferencia en la percepción del sabor amargo y el polimorfismo individual. Uno de los receptores, que permite esta diferenciación es el TAS2R38, que se une muy estrictamente al grupo químico CN = S, que está contenido en muchas tioureas, como la feniltiocarbamida (PTC) y el 6-n-propiltiouracilo (PROP) (Duffy *et al.*, 2004).

La sensibilidad al sabor amargo, tiene un carácter hereditario, asociado con los haplotipos (conjunto de variaciones de ADN o polimorfismo) AVI y PAV (secuencias de aminoácidos Alanina-Valina-Isoleucina y Prolina-Alanina-Valina respectivamente) de la proteína producida por el gen receptor TAS2R38 (Bufe *et al.*, 2005), localizado en el brazo largo del cromosoma 7 (Drayna *et al.*, 2003). El gen receptor TAS2R38, está compuesto por un único exón en el que hay polimorfismo en tres SNPs en las posiciones de nucleótidos del gen 145 (rs713598 C/G) (presente en los catadores), 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) (ambos presentes en los súper catadores). Los tres SNP no son sinónimos y son responsables de tres sustituciones de aminoácidos en la proteína en las posiciones P49A (Prolina/Alanina), A262V Alanina/Valina) y V296I (Valina/Isoleucina), respectivamente (Orrú *et al.*, 2015).

La proteína producida por el gen TAS2R38 puede contener la secuencia de aminoácidos Alanina-Valina-Isoleína (AVI) o Prolina-Alanina-Valina (PAV). Las dos secuencias, AVI y PAV, identifican tres genotipos diferentes. Las personas con el haplotipo dominante PAV/PAV expresan una alta sensibilidad al amargor de las tioureas, que corresponde al super-catador; las personas con el haplotipo recesivo AVI/AVI muestran una sensibilidad limitada o no a la tiourea, correspondiente al no catador; y las personas con la sensibilidad intermedia PAV/AVI heterocigótica, correspondiente al catador medio (Kim *et al.*, 2003).

Con el fin de identificar las diferencias genéticas relacionadas a la sensibilidad al sabor amargo personas no catadores, catadores medio o moderado y súper catadores se puede realizar la caracterización de los haplotipos del gen TAS2R38, a través de la evaluación de los polimorfismos de un nucleótido sencillo (SNPs), que tienden a ser heredados juntos, empleando la técnica de PCR como lo establece Orrú *et al.* (2015).

2.6.2 Muestras de células bucales para análisis del polimorfismo del ADN

El método básico utilizado en biología molecular se inicia con la extracción de ADN, ARN y proteína. Estas biomoléculas pueden aislarse de cualquier material biológico para posteriores procesos preparativos o analíticos. En la actualidad el proceso de extracción y purificación de ácidos nucleicos a través de métodos especializados, incluídos kits completos, permite maximizar un alto rendimiento de muestras, su pureza, reproducibilidad y escalabilidad de las biomoléculas, así como la velocidad, exactitud y fiabilidad del ensayo, minimizando el riesgo de contaminación cruzada (Chee y Chin, 2009).

Por lo general la extracción de ADN se obtiene fácilmente a partir de sangre, sin embargo para estudios genéticos, para muestreo más amplio de la población y en los grandes estudios epidemiológicos se requiere métodos de recolección de ADN no invasivos y a veces caseros (Rogers *et al.*, 2007). A la fecha, los métodos no invasivos de extracción de ADN, para los protocolos básicos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y genotipado, comprenden muestras de enjuague bucal (solución de enjuague), del hisopado de la mucosa bucal (mejillas) (Cozier *et al.*, 2004; Lench *et al.*, 1988), del lavado bucal (cepillo bucal) (Garciá-Closas *et al.*, 2001), del hisopado bucal con algodón (Meulenbelt *et al.*, 1995), a partir de saliva impregnada en tarjetas tratadas (IsoCode Stix) (Mulot *et al.*, 2005) y empleando un kit de recolección de saliva (ADN Oragene [™], ADN Genotek, Inc; Ottawa, Ontario, Canadá) (Rogers *et al.*, 2007).

2.6.3 El ácido nucleico: ADN

Klug *et al.* (2008) señalan que el ADN es el material genético de todos los seres vivos de la tierra, a excepción de algunos virus. Es un ácido nucleico formado por moléculas de nucleótidos (mononucleótidos) que constan de tres componentes esenciales: una base nitrogenada y un azúcar pentósico (desoxirribosa, de cinco carbonos) que conforman una unidad química denominada nucleósido, y un grupo fosfato. Las bases nitrogenadas comprenden: purinas, un doble anillo de nueve lados (adenina "A" y guanina "G") y pirimidinas, un anillo de seis lados (citosina "C" y timina "T"). La unión entre dos mononucleótidos (un grupo fosfato unido a dos azúcares por enlace fosfodiester en el C-5′ y C-3′) forma un dinucleótido, la de tres nucleótidos, un trinucleótido; así cadenas cortas de menos de 20 nucleótidos unidos se denominan oligonucleótidos y cadenas más largas polinucleótidos. Según el modelo de Watson y Crick, el ADN se presenta con la forma de una doble hélice, con las siguientes características:

- Dos largas cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor de un eje central, formando una doble hélice enrollada hacia la derecha (dextrógira).
- Las dos cadenas son antiparalelas, es decir la orientación C-5´ y C-3´ va en direcciones opuestas.
- Las base de las dos cadenas yacen formando estructuras planas y perpendiculares al eje; están "apiladas" una sobre otra, separadas 3,4 Å (0,34 ηm), y se encuentran en el interior de la estructura.
- Las bases nitrogenadas de las cadenas opuestas están apareadas como resultado de la formación de puentes de hidrógeno, en el ADN sólo se permiten los emparejamientos de las bases complementarias A=T y G≡C.
- Cada vuelta completa de la hélice tiene una longitud de 34 Å (3,4 ηm); de este modo cada vuelta de la cadena contienen 10 bases.
- En cualquier segmento de la molécula, se observa un surco mayor y un surco menor que se alternan a lo largo del eje.
- La doble hélice mide 20 Å (2,0 ηm) de diámetro.

La estructura del ADN proporciona la base para almacenar y expresar la información genética, además ofrece un sencillo mecanismo para su replicación y se presta a varios tipos de análisis, que a su vez han conducido a estudios sobre los aspectos funcionales. La absorción de la luz UV, las propiedades de sedimentación, la desnaturalización-reasociación

y los procedimientos electroforéticos están entre las herramientas importantes en el estudio de los ácidos nucleicos (Klug *et al.*, 2008).

2.6.4 Extracción y purificación de ADN

El primer paso en la aplicación de técnicas moleculares es la extracción de ADN de las células y su purificación por separación de otros componentes celulares, siendo crucial la calidad del material de partida.

a. Homogenización y ruptura de células y tejidos

El material de partida puede ser un cultivo de células bacterianas o eucariotas, que deben separarse del medio de crecimiento (por centrifugación), o una muestra de tejido más complejo, que primero necesita ser homogenizado para que las células individuales puedan ser lisadas y luego liberar sus componentes. El material debe ser recién obtenido o congelado hasta que esté listo para usar y así evitar la degradación por las enzimas presentes en el extracto celular (Sambrook *et al.*, 1989).

Las células bacterianas tienen paredes que deben sufrir una ruptura antes de la liberación del contenido celular; por lo general empleando lisozima (enzima presente en la clara de huevo y las lágrimas, que descomponen las paredes celulares bacterianas); a menudo junto con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y un detergente como SDS (dodecilsulfato de sodio). El EDTA elimina los cationes divalentes y desestabiliza la membrana externa en bacterias como E. coli, también inhibe las ADNasas que podrían degradar el ADN, mientras que el detergente solubiliza los lípidos de la membrana. Las células vegetales y fúngicas, con paredes celulares diferentes a las bacterias, requieren tratamientos alternativos, mecánicos o enzimáticos, mientras que las células animales (que carecen de una pared celular) pueden ser lisadas por un tratamiento más suave con un detergente suave. Luego de la ruptura de paredes celulares y membrana plasmática, se encuentra una mixtura de dicho material y componentes intracelulares liberados: una solución compleja de ADN, ARN, proteínas, lípidos y carbohidratos. Cabe señalar que la repentina lisis de la célula resultará usualmente en alguna fragmentación del ADN cromosomal, por lo que se requiere condiciones más suaves de lisis. El siguiente paso en el procedimiento es separar el ácido nucleico deseado de estos otros componentes (Dale y Von Schantz, 2002).

b. Tratamiento enzimático

La remoción del ARN de una preparación de ADN es fácil por tratamiento con ribonucleasa (ARNasa), enzima muy estable frente al calor y fácil de asegurar que está libre de trazas de

desoxirribonucleasa (ADNasa), que degradaría al ADN simplemente por calentamiento de la enzima antes de su uso. Asimismo la contaminación por proteínas puede ser removida por digestión con una enzima proteolítica como la proteinasa K (Dale y Von Schantz, 2002).

c. Extracción fenol-cloroformo

La remoción de proteínas es importante porque la célula contiene un número de enzimas que degradarán los ácidos nucleicos, así como otras proteínas que pueden interferir con procedimientos subsecuentes por su adhesión a los ácidos nucleicos. Frecuentemente las proteínas se remueven por extracción con fenol licuado o preferentemente, con una mezcla de fenol y cloroformo; ambos son (marcadamente) inmisibles con agua, de manera que se obtendrán dos capas (fases) al ser agregadas al extracto celular. Cuando la mezcla se agita vigorosamente, las proteínas se desnaturalizan y precipitan en la interfase; si se usa fenol que ha sido equilibrado con un buffer neutral o alcalino, los ácidos nucleicos (ADN y ARN) permanecerán en la capa acuosa (sobre la interfase) y si la extracción se realiza con fenol acídico, condición más adecuada, el ADN se agrupará en la fase orgánica (bajo la interfase), permitiendo la recuperación del ARN desde la fase acuosa y la separación del ADN. La extracción de fenol es también útil en etapas subsecuentes para asegurar que todas las trazas de una enzima hayan sido removidas antes de proceder al siguiente paso; el fenol es altamente tóxico por absorción en la piel y deben usarse guantes K (Dale y Von Schantz, 2002 y Sambrook *et al.*, 1989).

d. Precipitación por alcohol

Después de la extracción con fenol se tendrá una muestra de ácidos nucleicos libre de proteínas, sin embargo, estará más diluida de lo deseado, y además contendrá trazas de fenol y cloroformo. El fenol en particular tiene un significativo grado de solubilidad en agua, y puede conducir a la desnaturalización de las enzimas en pasos subsecuentes. La estrategia es concentrar y luego purificar la solución por precipitación del ácido nucleico. Esto se hace adicionando un alcohol, ya sea isopropanol (más frecuentemente) etanol; que en presencia de cationes monovalentes (Na⁺, K⁺ o NH₄⁺) forma un precipitado de ácido nucleico que puede colectarse en la base del tubo de ensayo por centrifugación. Algo de la sal precipitará también y se remueve por enjuague con etanol al 70 por ciento y posterior centrifugación, decantación y eliminación por evaporación permitiendo obtener el ADN en el tubo de ensayo (Dale y Von Schantz, 2002; Sambrook *et al.*, 1989).

e. Redisolución del ADN

Una vez que se ha eliminado el etanol, el paso siguiente es hidratar el ADN para mantenerlo en solución. En el caso de emplear agua, el pH debe ser 7 para permitir la redisolución completa del ADN y evitar una hidrólisis ácida. Cuando se utiliza una solución amortiguadora, es preferible una solución de Tris-HCl a 10 mM y EDTA a 0,1 M a un pH de 8,0 (*low* TE) para almacenar el material. Cuando se está disolviendo el ADN es importante evitar el pipeteo y la agitación agresiva pues se pueden fragmentar moléculas de alto peso molecular. Una opción que evita la fragmentación consiste en incubar el ADN a 55 °C por 1 a 2 horas con agitación suave (Sambrook *et al.*, 1989).

Es conveniente obtener una buena cantidad de ADN cuando la muestra lo permite y que éste se encuentre lo más limpio y puro posible, libre de contaminantes como proteínas básicas, ARN, carbohidratos, etc.; que pueden bloquear la acción del tratamiento al que se someterá dicho ADN (Prieto, 2002).

f. Almacenamiento del ADN

Una vez que el ADN ha sido purificado, cuantificado y analizado mediante electroforesis, una parte de la muestra se puede almacenar a 4 °C para los análisis inmediatos y el material restante a -20 °C o -80 °C, para una preservación por varios meses. En este último caso es conveniente que el ADN se conserve en soluciones con baja concentración de sales (*low* TE) para inhibir la acción de ADNasas contaminantes (Sambrook *et al.*, 1989).

e. Detección y cuantificación de ácidos nucleicos

Si la preparación de ADN es razonablemente pura (libre de otros materiales que absorben radiación UV como ARN, nucleótidos libres y proteínas) entonces se puede estimar la concentración de ADN al medir la absorbancia de la solución en un espectrofotómetro a 260 ηm. Esto es conveniente pero no muy sensible: una solución de 50 ug/ml de ADN de doble hebra tendrá una absorbancia de uno, sin embargo, la presencia de proteínas o fenol afectarán este estimado. Cabe señalar que la absorvancia de UV no proporciona una verificación de la integridad del ADN, este puede estar completamente degradado y todavía arrojar una lectura, por lo que se requiere de una evaluación a través de electroforesis de geles (Desjardins y Conklin, 2010 y Dale; Von Schantz, 2002).

Asimismo Desjardins y Conklin (2010), señalan que la pureza del ADN se mide a través de los valores de las absorbancias a 260/280 y de 260/230, y sugieren que la pureza del ADN y

ARN se encuentra en el ratio de ~ 1,8 para el primero y ~ 2,0 para el segundo respectivamente; ratios que se pueden obtener en el espectrofotómetro a 260 ηm.

f. Electroforesis del gel

Es una técnica crucial tanto para el análisis como para la purificación de ácidos nucleicos. Cuando una molécula cargada se localiza en un campo eléctrico, migrará hacia el electrodo con la carga opuesta; las moléculas de ácido nucleico, al ser de carca negativa, se moverán hacia el polo positivo (ánodo). En un gel, que consiste en una red compleja de poros, la tasa o el ratio al cual una molécula de ácido nucleico se mueve estará determinada por su habilidad para penetrar a través de dicha red. Para fragmentos lineales de ADN de doble hebra con un cierto tamaño, esto reflejará el tamaño de la molécula (la longitud del ADN). Se puede usar geles de agarosa para separar moléculas de ácidos nucleicos mayores que algunos cientos de pares de base, reduciendo la concentración de agarosa para obtener separación efectiva de fragmentos más largos, o incrementándola para fragmentos más pequeños. Para moléculas más pequeñas de pares de base, se puede usar geles de poliacrilamida (Dale y Von Schantz, 2002).

g. Análisis de la electroforesis del gel

La electroforesis del gel de agarosa se puede usar para analizar la composición y calidad de una muestra de ácido nucleico, para determinar el tamaño de los fragmentos de ADN de una digestión de restricción o de los productos de una reacción de PCR. Para ello es necesario calibrar el gel corriendo un marcador estándar que contenga fragmentos de tamaños conocidos como es el caso del producto de digestión *Hind*III de ADN del bacteriófago Lambda; por lo tanto por comparación con los fragmentos del marcador es posible luego estimar el tamaño de los fragmentos desconocidos asumiendo que son de ADN de doble hebra (Dale y Von Schantz, 2002).

2.6.5 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), herramienta de gran valor en biología molecular, por su versatilidad, adaptabilidad y aplicabilidad (Bolivar *et al.*, 2013). Es una técnica muy sensible, de reacción enzimática *in vitro*, que permite la amplificación en millones de veces de un segmento o secuencia específica de ADN o gen, durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. Así si en la reacción, se usa como sustrato ADN genómico, entonces típicamente se habla de una PCR (Tamay de Dios *et al.*, 2013). La PCR

permite la detección y la identificación de secuencias de genes utilizando técnicas visuales basadas en el tamaño y la carga (Garibyan y Avashia, 2013).

Los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN), los oligonucleótidos O cebadores (primers), la enzima (ADN polimerasa), desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora o buffer y H₂O. Los cebadores o primers son secuencias de oligonucleótidos que flanquean y delimitan la secuencia blanco que se desea amplificar y son complementarios a ésta. Generalmente su tamaño oscila entre 15-25 pares de bases y la cantidad de guanina (G)-citosina (C) no debe ser más del 55 por ciento de la secuencia. Si no se respetan estas reglas, existe la posibilidad de la formación de dímeros de cebadores, es decir, de productos inespecíficos que repercutiría en el rendimiento de la reacción y en la especificidad del producto esperado. En la PCR se emplean dos secuencias diferentes de cebadores: «forward» o sentido y «reward» o antisentido; ambos deben estar diseñados para que hibriden con el templado y las cadenas de ADN puedan ser extendidas por la ADN polimerasa en la dirección 5´-3´ (como sucede endógenamente) (Tamay de Dios et al., 2013 y Dale; Von Schantz, 2002).

La ADN polimerasa, comúnmente la más utilizada denominada Taq polimerasa, por su función de sintetizar naturalmente el ADN en las células, es la enzima clave que tiene la capacidad de enlazar a los nucleótidos libres para formar el producto amplificado que se desea (Garibyan y Avashia, 2013).

Los dNTP's son los ladrillos o bases nitrogenadas con los que la Taq polimerasa construye las nuevas cadenas de ADN. Son factores importantes que contribuyen a la especificidad de la reacción, por ello es importante que su concentración sea la adecuada ya que de lo contrario pueden afectar la función de la Taq polimerasa. Normalmente, se utilizan a una concentración que oscila entre 0,2 a 1,0 mM. El buffer es la solución amortiguadora que se usa en la reacción y generalmente está compuesta de Tris-HCL (pH = 8) cuya concentración final de trabajo debe ser 1X. El magnesio es un cofactor enzimático que influye en la especificidad de la reacción y en el rendimiento de la Taq polimerasa; regularmente su concentración oscila entre 0,5 y 2,5 mM. El agua es el disolvente en la reacción y se usa en su forma destilada libre de nucleasas, enzimas que degradan a los ácidos nucleicos (Tamay de Dios *et al.*, 2013).

Los elementos antes indicados interactúan en las tres etapas principales de la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión, en equipos denominados termocicladores, que

permiten un sistema homogéneo de pasos discretos, precisos y preprogramados de condiciones de temperatura y tiempo que permanecen estables en los repetidos ciclos de amplificación del ADN que se producen en las tres etapas (Weier y Gray, 1988).

En la desnaturalización, la reacción se calienta por encima del punto de las dos hebras complementarias del ADN blanco (templado o molde), permitiendo que las hebras se desnaturalicen y se separen (Garibyan y Avashia, 2013). Generalmente se realiza a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos; sin embargo el tiempo depende no solo de la secuencia del templado (si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones triple enlace), sino también de la velocidad en la que el termociclador aumenta la temperatura. Al final de esta etapa se tiene hebras de ADN separadas que servirán como templado para el siguiente paso (Tamay de Dios *et al.*, 2013).

En la hibridación la temperatura desciende, para permitir que los cebadores específicos puedan unirse a las hebras o segmentos de ADN blanco a partir del extremo 3′, la que se produce sólo si son complementarios en la secuencia (citosina y guanina; adenina y timina) (Garibyan y Avashia, 2013). La temperatura de hibridación (temperatura melting Tm) generalmente oscila entre 50-60 °C; si el diseño de los cebadores es el correcto y la temperatura es la adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficaz (Tamay de Dios *et al.*, 2013).

En la extensión la temperatura se incrementa, momento en el que la enzima Taq polimerasa actúa sobre el complejo blanco (templado-cebadores), y empieza su función catalítica de agregar dNTP's complementarios para extender los cebadores a la hebra de ADN en desarrollo. La extensión de las hebras es en dirección de la síntesis del ADN de 5´a 3´, a una temperatura de 72 °C (óptima para la enzima). Con cada repetición de las tres etapas, el número de moléculas de ADN o amplicones se multiplica exponencialmente (Ferreiro y Grattaplagia, 1996 y Tamay de Dios *et al.*, 2013).

Al final de la reacción, para corroborar si se amplificó la secuencia blanco de interés, los productos de PCR o amplicones son analizados en geles de agarosa para confirmar si la reacción fue exitosa (Garibyan y Avashia, 2013).

2.6.6 Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción

El polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción, por sus siglas en inglés RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), es una técnica para genotipado o caracterización genética, que permite identificar diferentes tipos de variaciones genéticas, las que incluyen, entre otros, polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) (más de 3 millones

en el genoma humano) y polimorfismos multi-nucleótidos (MNPs) (~ 1 por ciento del total de SNPs), los mismos que determinan diferencias entre los seres humanos (Rasmussen, 2012). La técnica RFLP se usa como marcador para identificar grupos particulares de personas con riesgo a contraer ciertas enfermedades genéticas, en ciencia forense, en pruebas de paternidad y en otros campos, ya que puede mostrar la relación genética entre individuos (Dale y Von Schantz, 2002).

La RFLP explota la condición de los SNPs, MNPs, que a menudo están asociados con la creación o abolición de un sitio de reconocimiento de enzimas de restricción, por lo que se refiere a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción (endonucleasas de restricción), denominándose fragmentos de restricción, que varían entre individuos, por lo que se dice que la población es polimórfica para dichos fragmentos pudiendo tener más de un alelo (Rasmussen, 2012).

La PCR-RFLP consiste en varias etapas separadas que incluyen: el diseño de cebadores, la identificación de una enzima de restricción apropiada, la amplificación de un fragmento que contiene la variación, el tratamiento con enzimas de restricción de productos amplificados, y dado que la presencia o ausencia del sitio de reconocimiento de la enzima de restricción da lugar a la formación de fragmentos de restricción de diferentes tamaños, la identificación del alelo puede hacerse mediante electroforesis de los fragmentos de restricción (Rasmussen, 2012); técnica empleada en la presente investigación para evaluar el polimorfismo del gen TAS2R38 responsable de la percepción del sabor amargo en catadores PROP, jueces sensoriales entrenados en la evaluación sensorial de quinua.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El trabajo de investigación se realizó en la Universidad Nacional Agraria La Molina en el Laboratorio de Análisis Fisico-Químico de Alimentos y Laboratorio de Evaluación Sensorial de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias, en el Laboratorio de Micología y Biotecnología de la Facultad de Ciencias, en el Laboratorio del Instituto de Biotecnología de la Facultad de Agronomía, en el Laboratorio de Inocuidad de Alimentos acondicionado con el Proyecto 141-FINCYT-IA-2013 y en el Laboratorio de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba – Argentina.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Materia prima

Las materias primas empleadas en la investigación fueron tres variedades de quinua: Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY), y Pasankalla (PK), provenientes de la provincia de Jauja, Valle del Mantaro en la Región Junín del Perú a 3300 msnm.

3.2.2 Materiales

- Algodón hidrofílico.
- Balones de vidrio de 250 ml.
- Barras magnéticas.
- Caja térmica: lunchera cooler Rubbermaid y gel congelante.
- Cajas porta: pipetas, placas, tips, tubos de ensayo con tapa (0,4 a 2 ml).
- Crisoles de porcelana.
- Espátula de drigalski.
- Fiolas (10, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml).
- Frascos de vidrio con tapa.
- Guantes de nitrilo.

- Manopla de silicona.
- Matraz erlenmeyer graduado (50, 125, 250, 500 y 1000 ml).
- Mechero de alcohol de laboratorio.
- Micropipetas marca Capp (0,2-10 μl, 0,5-10 μl, 10-100 μl, 20-200 μl, 100-1000 μl).
- Mortero y pilón de cerámica.
- Papel filtro y papel Kraft.
- Papel Parafilm.
- Papel toalla y servilletas.
- Pipeta serológica (1, 5 y 10 ml).
- Placas petri de vidrio (90 x 15 mm y 60 x 15 mm).
- Plumones marcadores, lapiceros y regla 30 cm.
- Probetas (10, 100, 250, 500, 1000 ml).
- Propipetas o pipeteadores (2, 10 y 25ml).
- Racks y gradillas.
- Tamices: Mallas ASTM 12 (1,7 mm), 14 (1,4 mm), 60 (250 μm), 200 (75 μm) y 270 (53 μm), stainless steel marca Advantech, USA.
- Tips (0-10 μl, 10-100 μl, 100-1000 μl).
- Tubo de ensayo con tapa rosca (16 x 150 mm).
- Tubos de ensayo con tapa (0,4; 0,6; 1,5 y 2 ml).
- Tubos para centrífuga Corning (15 y 50 ml).
- Vajilla de plástico descartable (platos: 15 mm, vasos: 3-7 oz; cucharitas, jarras, azafates).
- Vasos de precipitado (10, 50, 250, 500 y 1000 ml).

3.2.3 Reactivos, medios de cultivo y alimentos

- Acetato de magnesio marca Merck.
- Acetato de potasio marca Merck.
- Ácido acético glacial r.a. ACS marca JTBaker.

- Ácido bórico p.a. ACS marca Emsure.
- Ácido cítrico 99 por ciento marca Aromas del Perú.
- Ácido clorhídrico 38 por ciento ACS marca JTBaker.
- Ácido sulfúrico al 98 por ciento p.a. ACS marca JTBaker.
- Acido tánico polvo Emprove® marca Merck.
- Acrilamida para electroforesis grado molecular OmniPur® marca Merck.
- Agar OGA (Oxytetracycline Glucose Agar) marca Merck.
- Agar PCA (Plate Count Agar) marca Merck.
- Agar VRBA (Violet Red Bile Agar) marca Merck.
- Agarosa grado biología molecular marca Genbiotech.
- Agua destilada marca Aquality.
- Agua grado molecular marca Applichem.
- Agua ultra pura marca Norgen.
- Alcohol etílico 99,9 por ciento p.a. ACS marca Fermont.
- Alcohol isoamílico p.a. ACS marca Emsure.
- Alcohol isopropilico (2-propanol) p.a. ACS marca Emsure.
- Alcohol puro 96° marca CKF.
- Alimentos (zanahoria, galletas de agua).
- Anhidrido acético p.a. marca JTBaker.
- Bacillus Cereus Mossel Agar (Base) (Myp, Prep, Polimixina, Rojo Fenol, Yema Y Manitol Agar) Marca Merck.
- Bind Silane y Repel Silane marca Sigma-Aldrich.
- Bromuro de etidio marca Biochemica.
- Cafeína 99 por ciento marca Aromas del Perú.
- Caldos: Tripticasa de soya, Tetrationato base y Rappaport para salmonella marca Difco.
- Cebadores 1Fmut y 1Rmut y 2Fmut y 2Rmut sintentizados por Macrogen Inc.
- Cloroformo p.a. ACS marca Emsure.

- Cloruro de magnesio anhidro (MgCl₂) marca Merck.
- Cloruro de sodio (99 por ciento de pureza) marca Aromas del Perú.
- Cloruro de sodio 99 por ciento ACS marca Sigma-Aldrich.
- Cloruro de sodio p.a. ACS marca Sigma Aldrich.
- Dithiothreitol ACS marca Merck.
- dNTP's (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) marca Kapa Biosystems, USA.
- EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético) CAS marca Merck.
- Enzimas de restricción: *Hae*III, *Eco*47III y *Rsa*I marca Thermo Fisher Scientific, USA.
- Etanol absoluto p.a. ACS Emsure marca Merck
- Etanol para biología molecular marca Merck.
- Éter de petróleo p.a. marca JTBaker
- Galletas de agua marca Costa.
- Glutamato monosódico (99 por ciento de pureza) marca Ajinomoto...
- Hidróxido de sodio p.a. ACS marca Fermont.
- Indicador Fenoltaleina r.a. ACS marca JTBaker.
- Indicadores: Rojo de metilo y verde de bromocresol ACS reagent marca Sigma.
- Kapa Taq DNA polimerasa marca Kapa Biosystems, USA.
- Kit de ensayo de Megazyme International®, Ireland.
- Kit Wizard® Genomic DNA Purification marca Promega Corporation, USA.
- Marcador de peso Gene Ruler 100pb DNA Ladder marca Thermo Fisher Scientific, USA
- Marcador de peso Lambda DNA *Hind*III marca Thermo Fisher Scientific, USA
- Papel tissue.
- Peptona bacteriológica marca Difco.
- Persulfato de amonio marca Merck.
- Polvo de saponina de quinua escarificada.
- Probumin BSA marca Merck.

- PROP (6-n-Propiltiouracilo) marca Sigma-Aldrich.
- Rnase, DNase proteinase-free marca Thermo Fisher Scientific, USA.
- Sacarosa 99 por ciento marca Aromas del Perú.
- Saponina química pura CAS marca Merck
- Sulfato de cobre III (CuSO₄.5H₂O) p.a. marca Merck.
- Sulfato de ferroso heptahidratado marca CDH.
- Sulfato de potasio (K₂SO₄) p.a. ACS marca Fermont.
- TAE Buffer Tris Acetate EDTA marca Gentox.
- Tampón de carga (DNA Gel Loading Dye) 6X marca Thermo Fisher Scientific, USA.
- Taq 10X Buffer marca Kapa Biosystems, USA.
- Temed (Tetrametil etilendiamina) marca Merck.
- Tris (hidroximetilaminometano p.a. ACS marca Emsure.

3.2.4 Equipos

- Agitador magnético ANS-001 marca SBS, España.
- Agitador orbital SSL1 marca Stuart, Reino Unido.
- Agitador vortex Reax Top marca Heidolph, Alemania.
- Agitador vortex Wizard marca Velp Scientifica, Italia.
- Analizador laser de difracción del tamaño de partícula Horiba LA-950V2, Kyoto,
 Japan.
- Autoclave vertical digital automática modelo AVDTA30 marca Reles, Perú.
- Balanza analítica BLC220 marca Boeco, Alemania.
- Balanza analítica Pioneer Pa224 marca Ohaus, USA.
- Baño maría WV 22 marca Memmer, alemania.
- Bateria calefactora Soxlet marca SBS, España y vidriería marca Boeco, Alemania.
- Cabina de flujo laminar clase II 11231 BBC86 marca Biobase, China.
- Calorímetro diferencial de barrido DSC 823 marca Mettler Toledo, Switzerland.
- Cámara electroforética para gel de poliacrilamida.

- Cámara fotográfica digital marca Fuji Film, Japón.
- Centrifuga D-7850022 marca Hettich, Alemania.
- Centrífuga CP80NX marca Hitachi, Japón.
- Contador de colonia SC6 Plus Biocote marca Stuart, España.
- Difractómetro de Rayos X Philips PW3020m, Eindhoven, Netherlands.
- Digestor micro-Kjedalhl, Scrubber y destilador de nitrógeno marca Behr, Alemania
- Espectrofotómetro HP 8453 UV marca Agilent, Alemania.
- Espectrofotómetro NanoDrop 2000 spectrophotometer US/CAN marca Thermo Scientific, USA.
- Estufa de convección natural Incucell 55 marca MMM, Alemania.
- Fotodocumentador de geles SmartView Pro marca Major Science, USA.
- Horno microondas marca General Electric, USA.
- Incubadora microbiológica digital Incucell 55 marca MMM, Alemania.
- Licuadora marca Oster, USA.
- Licuadora HR1605/01 marca Philips, Netherlands.
- Mechero Bunsen con balón de gas.
- Microcentrífuga Smart 15 marca Hanil Science Industrial Co; Corea del Sur.
- Microjeringa marca Hamilton, Dinamarca.
- Microscopio Electrónico de Barrido 35 CF marca Jeol Ltd; Tokyo, Japón.
- Minicentrífuga 6-K 6000 rpm marca Labklass, Argentina.
- Mufla marca Dalhan Scientific, Corea del Sur.
- Pie de Rey digital 500-181-30 marca Mitutotyo, Japón.
- Potenciómetro de mesa Basic 20 marca Crison, España.
- Procesador de alimentos MJ-W176P marca Panasonic, Japón.
- Rapid Visco Analyzer RVA-4 marca Newport Scientific Pty. Ltd; Warriewood, Australia.
- Refrigeradora marca LG, Corea del Sur.

- Seward Stomacher® 400 Circulator, UK.
- Sistema Midi de electroforesis horizontal marca Major Scientific. USA.
- Termociclador gradiente convencional Tadvanced 96 G marca Analytik Jena/Biometra,
 Alemania.
- Texturómetro 3365 marca Instron, USA.

3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.3.1 Clasificación de los granos de quinua por grados de calidad

Se siguió la metodología establecida en la NTP 205.062:2014. Granos andinos. Quinua Requisitos (INDECOPI, 2014c).

3.3.2 Determinación del contenido de saponina

Se siguió el método espectrofotométrico propuesto por Guzmán *et al.* (2013). Se obtuvo una curva estándar con una solución de saponina química Merck 20 mg/ml y diluciones de 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 y 10 mg/ml; se tomó 0,6 ml de los tubos de diluciones y se añadió 1,0 ml de reactivo de color Lieberman Burchard- (anhidrido acético y ácido sulfúrico 1:5), se agitaron por 30 s. y se dejó en reposo durante 37 min. Se realizaron las lecturas a 598 nm y se obtuvo la curva de calibración. La extracción de saponinas se realizó colocando los granos de quinua en etanol al 50 por ciento (1:20) y se dejó en reposo durante 30 minutos, se filtró al vacío y se enrasó el extracto líquido a 25 ml con etanol al 50 por ciento. Se tomó 0,6 ml y se añadió el reactivo de color Lieberman-Burchard según lo señalado anteriormente y se realizaron las lecturas a 598 nm. En la cuantificación de saponinas se empleó la curva calibración.

3.3.3 Métodos de análisis proximal de los granos de quinua y almidones

Se realizó la determinación del contenido de: Humedad (44-19), Proteínas (con el factor Nx6,25) (30-25), Grasa (30-10), Fibra cruda (32-10), Cenizas (08-01), siguiendo las metodologías de la A.A.C.C. (2000); asimismo se determinó el contenido de Carbohidratos por diferencia de 100 en porcentaje (100 – Humedad – Proteína – Grasa – Cenizas) y en base seca (100 – Proteína – Grasa – Cenizas). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado y expresadas en base seca.

3.3.4 Métodos de análisis microbiológicos

Se realizó el recuento de aerobios mesófilos, mohos, coliformes totales, *Bacillus cereus* y *Salmonella sp*; siguiendo las metodologías de la ICMSF (1983).

3.3.5 Rendimiento de almidón

El rendimiento de almidón fue calculado según lo propuesto por Moheno-Perez *et al.* (1999), usando la ecuación (α):

Rendimiento de almidón =
$$\frac{Peso\ de\ almidón\ (bs)}{Peso\ del\ grano\ (bs)}\ x\ 100\ ...\ (\alpha)$$

3.3.6 Determinación del contenido de almidón

El contenido de almidón se determinó mediante un Kit de ensayo de Megazyme International®, Ireland. El kit de ensayo de almidón total K-TSTA se basa en el uso de amilasa termoestable y amiloglucosidasa según el método 996.11 (A.O.A.C., 2000). Los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados se expresaron en porcentaje.

3.3.7 Determinación del contenido de amilosa y amilopectina

El contenido de amilosa y amilopectina en las muestras de almidón fue determinado empleando el Kit de ensayo de Megazyme K-AMYL 12/16 International®, Ireland, siguiendo el procedimiento descrito por Gibson *et al.* (1997). Los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados se expresaron en gramos de amilosa y amilopectina por 100 gramos de almidón.

3.3.8 Análisis de la forma y tamaño de partícula del granulo de almidón

Se obtuvo las imágenes de los gránulos de almidón empleando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). Para ello los gránulos de almidón se mezclaron y recubrieron con partículas de oro durante 4 minutos; las imágenes fueron tomadas usando un Microscopio Electrónico de Barrido (Jeol) con un voltaje de aceleración de 6 kV y 50,00 KX de amplificación. Posteriormente, los gránulos de almidón (aproximadamente 50 mg) fueron suspendidos en agua y se obtuvo el tamaño de partícula (0-100 mm) empleando el Analizador Laser de Difracción del Tamaño de Partícula (Horiba).

3.3.9 Determinación de patrones de difracción de Rayos X y cristalinidad

Se determinaron los patrones de difracción X (XRD) de los almidones empleando un Difractómetro de Rayos X (Philips). Se tomaron con radiación Cu Ka (11 ¼ 0.154 nm) y con

el tubo de rayos X Philips (PW3830) operado a 40 Kv y 30 mA. Las regiones de barrido del ángulo de difracción (2u) se realizaron de 4 a 30° a una velocidad de barrido de 2°/min. Las áreas cristalinas y amorfas fueron cuantificadas utilizando el software PeakFit v4 for Win32 (AISN Software, Inc.). Los picos cristalinos fueron analizados como formas seudo-voigt y las formas amorfas como picos de forma Gaussiana. Se obtuvo el área total de la fase cristalina y de la fase amorfa y se determinó la cristalinidad relativa, siguiendo lo reportado por Steffolani *et al.* (2013).

3.3.10 Propiedades térmicas mediante DSC (Calorimetría diferencial de barrido)

En la determinación de las propiedades térmicas del almidón se utilizó un calorímetro diferencial de barrido DSC 823 (Mettler Toledo). Las muestras (15 mg de almidón) se pesaron directamente en crisoles de aluminio de 100 μl y con una microjeringa (Hamilton) se adicionó agua (45 mg). Antes del proceso de calentamiento los crisoles fueron sellados y almacenados a 25 °C por 24 horas. Las muestras fueron calentadas desde 25 hasta 120 °C a una tasa de 10 °C/min. La calibración del DSC se realizó con indio (In), de acuerdo a los manuales de operación del equipo, y como referencia se usó un crisol sellado vacío. Con el software del equipo se obtuvo las temperaturas de gelatinización: de inicio u "onset" (T_o), máxima de pico "peak" o máxima (T_p) y final "endset" o conclusión (T_c) así como la entalpía de gelatinización (ΔH en J/g). Las muestras fueron evaluadas por triplicado.

3.3.11 Propiedades de pegado mediante RVA (Rapid Visco Analyzer)

Las propiedades de pegado de los almidones fueron medidas empleando el método general del Rapid Visco Analyzer RVA-4 (Newport Scientific Pty. Ltd.). La muestra de 3 gramos (en base seca) fue colocada en el recipiente cilíndrico y se adicionó 25 ml de agua destilada. A fin de lograr la dispersión de la mezcla cuasi líquida se agitó a 960 rpm mientras se incrementaba la temperatura a 50 °C. La mezcla cuasi líquida se mantuvo a 50 °C por 1 minuto y se incrementó la temperatura hasta 95 °C a una tasa de 9,4 °C/min en agitación a 160 rpm. Se mantuvo dicha mezcla a 95 °C por 2,5 min. Finalmente se realizó el enfriamiento hasta 50 °C a una tasa de enfriamiento de 11,8 °C/min. Durante el proceso se obtuvieron las curvas de pegado y a partir de ellas la temperatura de pegado o gel (P. Temp.), la viscosidad máxima (PV), tiempo máximo (P. Time), la viscosidad final (FV), la viscosidad de ruptura o breakdown (BD), la viscosidad de caída o trough (TR) y la viscosidad de restitución o setback (SB). Las muestras fueron evaluadas por triplicado.

3.3.12 Capacidad de retención de agua (WHC)

La capacidad de retención de agua se determinó siguiendo lo descrito por Mishra y Rai (2006). Se preparó una suspensión de almidón al 1 por ciento (en base a materia seca) en 10 ml de agua destilada, se agitó de forma intermitente durante 1 hora y se centrifugó (centrífuga Hitachi) a 30000 rpm por 15 min a 25 °C. Se decantó el agua libre y se pesó el almidón húmedo. La capacidad de retención de agua se calculó con la ecuación (β).

Capacidad de retención de agua =
$$\frac{\text{Peso del almidón húmedo-Peso del almidón seco}}{\text{Peso del almidón seco}} \dots (\beta)$$

3.3.13 Determinación de la firmeza y sinéresis de pastas de almidón

Se prepararon suspensiones de almidón en agua a 6 por ciento m/m en botellas de vidrio. Las suspensiones fueron equilibradas a temperatura ambiente por 20 minutos en constante agitación (agitador orbital Stuart) a 75 rpm. La gelatinización de las muestras se realizó por inmersión de las botellas de vidrio en baño maría a 95 °C por 10 minutos con agitación manual. Las pastas de almidón fueron decantadas en botellas de polipropileno de 60 mm de diámetro y se enfriaron a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas a 4 °C por 24 h. Se determinó la firmeza mediante la prueba de penetración en el texturómetro (Instron). Las pastas de almidón fueron comprimidas con una sonda de 2,5 cm de diámetro a una velocidad de penetración de 10 mm/s hasta una profundidad de 10 mm y a firmeza se calculó como la fuerza que necesitó la sonda para penetrar 10 mm en el interior de la muestra (Steffolani *et al.*, 2013).

La determinación de la sinéresis se realizó en las pastas de almidón almacenadas a 4 °C por 24, 72 y 144 h. Se colocaron las pastas de almidón en los tubos de 50 ml y se midió el peso total de la muestra. Se centrifugó a 1000 x g por 15 min en la centrífuga (Hettich) y se midió el peso de líquido separado. El grado de sinéresis se expresó como el porcentaje de líquido separado del peso total de la muestra (Eliasson y Kim, 1992).

3.4 MÉTODOS PARA CONFORMACIÓN DEL PANEL DE JUECES ENTRENADOS

Se conformó un panel de jueces entrenados siguiendo las etapas propuestas por INDECOPI (2014b), correspondientes al entrenamiento y control o evaluación del desempeño.

3.4.1 Entrenamiento de Jueces Sensoriales

Según Kemp *et al.* (2012) los jueces de un panel entrenado deben satisfacer los criterios mínimos para la agudeza sensorial (habilidad) y exhibir rasgos apropiados de personalidad

y actitud y presentar buena salud; para ello deben ser preseleccionados y luego seleccionados. A fin de entrenar a los jueces sensoriales se partió de un conjunto de candidatos seleccionados por Cáceres (2016), grupo que incluyó estudiantes y técnica de laboratorio de la Facultad de Industrias Alimentarias, así como una docente de la Facultad de Ciencias de la UNALM. Las características de los candidatos seleccionados se presenta en el Anexo 1.

Los objetivos del entrenamiento fueron: familiarizar a los jueces con los procedimientos de las pruebas, mejorar la habilidad de reconocer las diferencias en el sabor amargo de las muestras (Sancho *et al.*, 2002) así como incrementar la habilidad individual y grupal y mejorar la sensibilidad y memoria sensorial (Costell y Duran, 1981).

En el entrenamiento se usaron seis tipos de pruebas, empleadas para detectar, discriminar, describir y cuantificar características sensoriales, según lo establecido por INDECOPI (2014b). Cabe señalar que previo al inicio del proceso se realizó una sesión en la que se brindó información sobre los aspectos teóricos de la evaluación sensorial relativos a la percepción sensorial, umbrales, sabores, tipos de pruebas sensoriales y escalas de medición del tipo lineal no estructurada.

Asimismo se estableció que el criterio en cada prueba de entrenamiento sería un acierto del 100 por ciento, a través de la asignación de 1 (acierto) y 0 (desacierto) en cada prueba realizada, excepto en el entrenamiento en el uso de la escala de medición, en la que se buscó que los resultados de los panelistas no presentaran diferencia significativa al obtener el análisis de varianza, en el diseño de bloques completamente al azar, siguiendo lo propuesto por Montgomery (2002 y 2010).

a. Determinación del umbral de identificación

Se siguió lo propuesto por Espinoza (2007). El objetivo fue establecer la cantidad mínima de estímulo que permitió, a cada juez, identificar la sensación percibida en un conjunto de muestras del mismo tipo de sustancias sápidas que se presentaron en la evaluación (Soluciones de cafeína monohidratada, ácido tánico y saponina química). Asimismo la determinación del umbral de identificación también se realizó empleando granos de quinua con diferentes contenidos de saponina.

El tipo de muestras, el esquema de distribución para la evaluación así como el formato de la prueba se presentan en el Anexo 2. Cabe señalar que el análisis fue individual ya que la sensibilidad pudo variar de un juez a otro.

b. Prueba de emparejamiento

Se siguió lo establecido por INDECOPI (2014b). El objetivo fue entrenar a los jueces en la capacidad de emparejar muestras del mismo tipo de sustancias sápidas. En la evaluación se presentaron un número de muestras de soluciones en las cuales no todas tenían pareja. El tipo de muestras, el esquema de distribución para la evaluación así como el formato de la prueba se presentan en el Anexo 3.

c. Prueba de comparación por parejas

Se siguió lo establecido por INDECOPI (2014b) y Sancho *et al.* (2002). El objetivo fue entrenar a los jueces en la capacidad de discriminar entre pares de un mismo tipo de muestras de sustancias sápidas. La evaluación fue del tipo unilateral, dado que hubo diferencia pre establecida entre los pares de muestras. El tipo de muestras, el esquema de distribución para la evaluación así como el formato de la prueba se presentan en el Anexo 4.

d. Prueba triangular

Se siguió lo establecido por INDECOPI (2014b) y Kemp *et al.* (2012). El objetivo fue entrenar a los jueces en la capacidad de discriminar entre dos muestras diferentes, de un mismo tipo de sustancias sápidas, distribuidas en 3 recipientes. El tipo de muestras, el esquema de distribución para la evaluación así como el formato de la prueba se presentan en el Anexo 5.

e. Prueba de ordenamiento

Se siguió lo establecido por INDECOPI (2014b) y Kemp *et al.* (2012). El objetivo fue entrenar a los jueces en la capacidad de discriminar la intensidad del atributo amargo entre tres o más muestras diferentes, a fin de ordenarlos de menor a mayor intensidad; como parte de la formación de los jueces para el análisis descriptivo. En la prueba los jueces se vieron obligados a hacer una elección para cada posición de orden en función al total de muestras. El tipo de muestras, el esquema de distribución para la evaluación así como el formato de la prueba se presentan en el Anexo 6.

f. Entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada

El objetivo entrenar a los jueces en el uso de la escala de medida de intervalo, continua, y como escala de respuesta del tipo lineal no estructurada unipolar (INDECOPI, 2014a e INACAL, 2015), con el fin de emplearla en la cuantificación de la intensidad del sabor amargo en las muestras de quinua, permitiendo transformar la sensación cualitativa en un valor cuantitativo, a través de un manejo eficaz, consistente y confiable de la misma.

Se utilizó la escala lineal no estructurada de 10 cm, con muestras ancladas en los extremos (bajo y alto sabor amargo), según lo recomendado por Stone *et al.* (2012).

Se realizó una primera sesión de capacitación en el tipo de escala, su uso, y la transformación de los resultados en datos para el análisis de estadístico. Se complementó con el entrenamiento de uso, psicológico, empleando figuras con áreas sombreadas, según lo recomendado por Meilgaard *et al.* (2015). En el entrenamiento de uso de la escala para la evaluación de quinua, se emplearon muestras de referencia (desaponificadas) con diferentes niveles de saponina, organizadas en cuanto a su intensidad, a través de una escala de categorías, que permitió su ubicación en la escala lineal no estructurada. Los formatos del entrenamiento, la obtención de las muestras de referencia y su relación con la escala lineal, se presentan en el Anexo 7.

g. Entrenamiento final

El entrenamiento final tuvo afianzar las habilidades de percepción sensorial de los jueces de acuerdo con Stone *et al.* (2012). Se emplearon las pruebas del tipo discriminativas (prueba triangular y de ordenamiento), y de evaluación de la intensidad del sabor amargo empleando la escala lineal no estructurada, en muestras de referencia de quinua con diferentes niveles de saponinas. El tipo de muestras, el esquema de distribución así como el formato de la prueba se presentan en los Anexos 5, 6 y 7 respectivamente.

En el caso de la evaluación de la intensidad del sabor amargo, aplicando el diseño de bloques completamente al azar (DBCA), se buscó demostrar que los jueces se encuentran entrenados para discriminar entre muestras y que existe consistencia entre el promedio de sus respuestas por muestra con respecto al valor nominal establecido, siguiendo lo recomendado por Fermin *et al.* (2009). El DBCA (Diseño de Bloques Completamente al Azar) se realizó de acuerdo a Montgomery (2002) y Siegel y Castellan (1995) y del coeficiente de concordancia de Kendal (W) (Siegel y Castellan, 1995), aplicando el programa estadístico Minitab 18.

3.4.2 Evaluación del desempeño

La evaluación del desempeño tuvo como objetivo comprobar el desempeño para confirmar que el panel de jueces sensoriales entrenados está realizando, de manera consistente y confiable las evaluaciones, como lo establece Kemp *et al.* (2012) antes de realizar el estudio definitivo de las muestras de quinua.

En la evaluación del desempeño se emplearon las pruebas ejecutadas en el entrenamiento. En la evaluación de la intensidad del sabor amargo se realizaron 4 repeticiones por cada muestra siguiendo lo establecido por Costell y Duran (1981) y Fermin *et al.* (2009). El análisis de los resultados se ejecutó con las metodologías estadísticas empleadas en el entrenamiento final.

3.5 PRUEBA DE EVALUACIÓN DEL SABOR AMARGO

La evaluación de la intensidad del sabor amargo, en las variedades de quinua en estudio: Blanca de Hualhuas, Rosada de Huancayo y Pasankalla se realizó empleando un panel de jueces entrenados, utilizando una escala lineal no estructurada, de respuesta unipolar y continua (INDECOPI, 2014a). En cada muestra se realizaron cuatro repeticiones. En el análisis de resultados se aplicaron las pruebas estadísticas empleadas en el entrenamiento final, además de la prueba de signos de la mediana (Siegel y Castellan, 1995) y aplicando los programas estadísticos Minitab 18 e IBM SPSS Statistics Versión 24.

3.6 MÉTODO DE EVALUACIÓN DEL ESTADO DEL CATADOR DE PROP (6-n-PROPILTIOURACILO)

La clasificación de catadores PROP (no catadores, catadores medio y súper catadores) permite identificar personas que perciben con mayor intensidad compuestos de sabor amargo. Se realizó la evaluación y clasificación de jueces sensoriales entrenados en catadores de PROP (6-n-Propiltiouracilo), siguiendo la metodología propuesta por Tepper *et al.* (2001) y Martínez-Ruiz *et al.* (2014).

Los estímulos del sabor fueron soluciones de PROP (6-n-Propiltiouracilo) (Sigma-Aldrich) en tres concentraciones (0,032; 0,32 y 3,2 mmol/L) y tres soluciones de NaCl (Cloruro de sodio) (Sigma Aldrich) (0,01; 0,1 y 1,0 mol/L), disueltas en agua destilada (Aquality). En el caso de las soluciones de PROP se prepararon disolviendo el soluto en agua con agitación sobre una plancha de calentamiento bajo calor suave. Se prepararon las soluciones antes de cada sesión y se almacenaron en refrigeración a 4 °C hasta una hora antes de su evaluación. Las muestras se presentaron a temperatura ambiente (25 °C), en porciones de 10 ml contenidas en vasos plásticos descartables e identificados con números aleatorios de tres dígitos.

Cada participante recibió primero las tres muestras de NaCl y se solicitó probar cada muestra, escupirla y no pasarla, y marcar, en la escala correspondiente, la intensidad de su percepción. Los participantes se enjuagaron la cavidad bucal antes y entre la degustación de cada muestra y esperaron un minuto entre muestras. Posteriormente se presentaron las tres

muestras con diferente concentración de PROP y se procedió como en el caso de las soluciones de NaCl. La evaluación se realizó por duplicado y los participantes descansaron 5 minutos entre pruebas.

Se empleó la escala de magnitud etiquetada (LMS: labeled magnitude scale) que permite estudiar directamente las diferencias perceptuales entre personas. La LMS, escala híbrida comprendió una línea etiquetada verbalmente, con espaciamiento cuasi-logarítmico entre cada etiqueta o categoría, que describieron diferentes intensidades del salado/amago, desde el extremo inferior con la frase "Apenas detectable", hasta el extremo superior con la frase "Más fuerte imaginable" (Ver Anexo 8).

Para realizar la clasificación de los panelistas, se calculó la media de las dos repeticiones para cada persona. Para calificar a los panelistas como no catadores PROP se consideró que las puntuaciones de NaCl fueran mayores a las puntuaciones de PROP y además estas últimas se encontraran en la etiqueta "moderado" (~15,5 mm) o menos de la escala LMS. Aquellos que otorgaron calificaciones similares a NaCl y PROP, fueron clasificados como catadores medio, y aquellos que calificaron a PROP más intenso que NaCl fueron considerados como súper catadores.

Las medias de los resultados del grupo de jueces sensoriales fueron analizados a través del DBCA (Diseño de Bloques Completamente al Azar) (Montgomery, 2002) así como de la Prueba no Paramétrica de Friedman seguida de su prueba de comparación (Siegel y Castellan, 1995) y aplicando el programa estadístico Minitab 18.

3.7 EVALUACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TAS2R38 EN EL PANEL DE JUECES ENTRENADOS

3.7.1 Colecta de células bucales de panel de jueces entrenados

La edad promedio del panel de jueces entrenados fue de 26 años en el rango de 22 a 38 años quienes presentaron umbrales de medición comunes a los estímulos quimisensoriales evaluados. Asimismo se encontraron libres de medicación que pudiera afectar la percepción del gusto u olor. La colecta de células se realizó siguiendo el método propuesto por Calvano *et al.* (2012).

a. Se citó al panel de jueces sensoriales entrenados para realizar la colecta de células bucales. Para ello debieron cumplir las instrucciones de lavarse los dientes y enjuagarse la cavidad bucal con agua potable como máximo 2 horas antes de realizar la extracción bucal, no ingerir alimentos o medicamentos en dicho periodo.

b. Los jueces sensoriales entrenados cómodamente sentados en el Laboratorio recibieron un tubo de ensayo con 10 ml de solución salina al 0,9 por ciento estéril (121 °C por 15 min). Realizaron un enjuague bucal haciendo buchadas con la cavidad bucal cerrada, así como frotándose la lengua sobre la mucosa oral incluida las ensías y dientes y de la lengua consigo misma, durante 1 minuto. Luego depositaron la solución de enjuague en el tubo Corning de propileno de 50 ml estéril (Aidar y Line, 2007).

3.7.2 Pretratamiento de las muestras de enjuague bucal

- a. Se realizó un pretratamiento de las muestras de enjuague bucal, siguiendo lo establecido por Aidar y Line (2007). A la solución del enjuague bucal se añadió una solución de TNE (17 mM Tris/HCl-pH 8,0; 50 mM NaCl y 7 mM EDTA) diluido en 66 por ciento de etanol en la proporción (5:3).
- b. Con el fin de mantener la integridad del ADN en el tiempo se dividió las soluciones pretratadas en 2 tubos. Un tubo se utilizó para la extracción inmediata y el otro tubo se mantuvo a temperatura ambiente por 2 a 30 días como muestra adicional para luego hacer la extracción de ADN.

3.7.3 Extracción del ADN Genómico con Wizard® Genomic ADN Purification Kit

Para la extracción de ADN genómico se utilizó el Kit Wizard® Genomic ADN Purification (Promega Corporation), siguiendo el procedimiento descrito en el manual del producto (Promega Corporation, 2014).

- a. Se tomó 1,4 ml de la solución pretratada conteniendo las células bucales y se colocó en un tubo de 1,5 ml. Se centrifugó a 3000 rpm por 10 min a temperatura ambiente para colectar el *pellet* (bolita).
- Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió y lavó el *pellet* con 1 ml de TNE (17 mM Tris/HCl-pH 8,0, 50 mM NaCl y 7 mM EDTA) y se centrifugó a 2000 rpm por 5 min.

Lisis y precipitación de proteinas

- c. Se adicionó 600 µl de Nuclei Lysis Solution y se pipeteó las células lisadas (20 veces) hasta que no quedaron grumos remanentes.
- d. Se adicionó 3 µl de Rnasa Solution para la lysis nuclear.
- e. Se mezcló invirtiendo los tubos, 5 veces.

- f. Se incubó a 37 °C por 30 minutos.
- g. Se enfrió la muestra a temperatura ambiente por 5 min.
- h. A temperatura ambiente se adicionó 200 μl de Protein Precipitation Solution y se mezcló invirtiendo 20 veces.
- i. Se enfrió en hielo por 5 min.
- j. Se centrifugó a 16000 g por 4 min (el precipitado de proteína formó un *pellet* compacto blanquecino).

Precipitación del ADN y Rehidratación

- k. Se removió cuidadosamente el sobrenadante conteniendo el ADN (se dejó el *pellet* de proteína atrás) y se colocó en un tubo de 1,5 ml conteniendo 600 μl de alcohol isopropílico (isopropanol), a temperatura ambiente.
- 1. Generosamente se mezcló la solución por inversión (60 veces), para permitir la formación de la masa de hilos de ADN.
- m. Se centrifugó a 16000 g por 1 min a temperatura ambiente a fin de obtener el *pellet* blanco pequeño de ADN.
- n. Se eliminó cuidadosamente el sobrenadante y se adicionó 600 μl de etanol al 70 por ciento a temperatura ambiente y se invirtió el tubo generosamente varias veces para lavar el *pellet* (30 veces).
- o. Se centrifugó a 16000 g por 1 min a temperatura ambiente.
- p. Cuidadosamente se aspiró el etanol empleando un tip de pipeta y con cuidado de no aspirar el *pellet* de ADN.
- q. Se invirtió el tubo en un papel toalla secante absorvente.
- r. Se secó el *pellet* por 15 min a temperatura ambiente y en forma adicional 15 min a 37 °C.
- s. Se adicionó 50 μl de ADN Rehydration Solution y se rehidrató el ADN incubando a 65 °C por 1 h. Cada 15 minutos se mezcló con toquecitos (30 veces).
- t. Se almacenó el ADN a 2-8 °C durante un día y posteriormente a -20 °C.

3.7.4 Evaluación del ADN

a. Concentración y pureza del ADN

La concentración y pureza del ADN fue determinado por espectrofotometría utilizando un NanoDrop 2000 spectrophotometer US/CAN (Thermo Scientific). La concentración de ADN a 260 ηm, se basó en la medida de la absorbancia de la cantidad de luz ultravioleta por las bases nitrogenadas, de tal manera que resultados de 1 OD (unidad de densidad óptica) corresponderían aproximadamente a 50 μg/mL de ADN de doble hebra. La concentración generada fue en ηg/μL y a partir de ello se obtuvo el ADN total (μg). La estimación de la pureza se obtuvo por la relación de lecturas a 260/280 nm y 260/230 nm, tomando en cuenta lo establecido por Desjardins y Conklin (2010).

b. Evaluación de la calidad del ADN extraido

La calidad e integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1 por ciento y por visualización de la tinción con bromuro de etidio (al 1 por ciento). La corrida se realizó a un voltaje de 100 V por 30 minutos.

En el gel de agarosa se cargó 5 µl de cada muestra y 1 µl del tampón de carga (6X). Asimismo se realizó la carga de 2 µl del marcador de peso Lambda DNA *Hind*III (Thermo Fisher Scientific) y 1 µl del tampón de carga (6X).

La calidad o integridad del ADN se visualizó en un fotodocumentador de geles modelo SmartView Pro (Major Science), empleando una exposición de 100 por ciento UV.

3.7.5 Amplificación de genes responsables del sabor amargo a través de PCR

Con el fin de identificar las diferencias genéticas relacionadas a la sensibilidad al sabor amargo en el panel de jueces entrenados, se realizó la detección de los haplotipos del gen TAS2R38, en este caso como un conjunto de polimorfismos de un nucleótido sencillo (SNPs o polimorfismo de un solo nucleótido) que tienden a ser heredados juntos.

Para ello se empleó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR, empleando cebadores (*primers*) diseñados por Orrú *et al.* (2015), los que introdujieron sustituciones de nucleótidos a fin de obtener, en los fragmentos amplificados, una región palindrómica, que permite ser reconocida por una endonucleasa. Una región palindrómica, es una secuencia de nucleótidos que se lee igual en las direcciones de una hebra con respecto a su complementaria (de $5' \rightarrow 3'$).

a. Síntesis de cebadores

Los cebadores empleados se sintetizaron por Macrogen Inc; cuya secuencia se muestran a continuación:

Cebadores 1Fmut y 1Rmut: Utilizados para identificar el polimorfismo rs713598 C/G del primer SNP (C/G). Dichos cebadores permitieron amplificar productos de 203 pares de bases (pb) (del nucleótido 98 al nucleótido 300) del gen TAS2R38.

El cebador 1Fmut se diseñó, según Orrú *et al.* (2015), reemplazando el nucleótido adenina (A) de la secuencia del gen TAS2R38 por una guanina (G) en el penúltimo nucleótido del extremo 3´ terminal (Figura 15), por lo tanto su secuencia fue:

 $\textbf{1Fmut 5'} \textbf{-} ATGCCTTCGTTTTCTTGGTGAATTTTTTGGGATGTAGTGAAGAGGC\underline{G} \textbf{G-3'}.$

De esta manera, los productos amplificados presentarían dicha sustitución generando una secuencia palindrómica GGCC que sería reconocida por la enzima de restricción *Hae*III en la etapa de digestión, permitiendo el corte de la secuencia sólo cuando estuviera presente en el fragmento el alelo C; presente en los catadores (Figura 16). El cebador 1Rmut no tuvo modificación alguna con respecto a la secuencia del gen TAS2R38 por lo tanto su secuencia fue:

1Rmut 5'-CATCCATAGCATGATGATGGCTTGGTA-3'

ATGTTGACTCTAACTCGCATCCGCACTGTGTCCTATGAAGTCAGGAGTACATTTCTGTTC	60
1F mut	
ATTTCAGTCCTGGAGTTTGCAGTGGGGTTTCTGACCAatgccttcgttttcttggtgaat	120
.a. *	
ttttgggatgtagtgaagaggcagC/GCACTGAGCAACAGTGATTGTGTGCTGCTGTGTCTC	180 * rs713598 c/G
AGCATCAGCCGGCTTTTCCTGCATGGACTGCTGTTCCTGAGTGCTATCCAGCTTACCCAC	240
1R	
TTCCAGAAGTTGAGTGAACCACTGAACCACAGCTaccaagccatcatcatgctatggatg	300
ATTGCAAACCAAGCCAACCTCTGGCTTGCTGCCTCCCTCAGCCTGCTTTACTGCTCCAAG	360
ATTIGENARCEARGECARGETTIGETGECTGCCTCAGCCTGCTTTACTGCTCCAAG	300
CTCATCCGTTTCTCTCACACCTTCCTGATCTGCTTGGCAAGCTGGGTCTCCAGGAAGATC	420
CICAICCGIIICICICACACCIICCIGAICIGCIIGGCAAGCIGGGICICCAGGAAGAIC	420
	480
TCCCAGATGCTCCTGGGTATTATTCTTTGCTCCTGCATCTGCACTGTCCTCTGTGTTTGG	480
	540
TGCTTTTTTAGCAGACCTCACTTCACAGTCACAACTGTGCTATTCATGAATAACAATACA	540
	500
AGGCTCAACTGGCAGATTAAAGATCTCAATTTATTTTAT	600
TGGTCTGTGCCTCCTTTCCTATTGTTTCTGGTTTCTTCTGGGATGCTGACTGTCTCCCTG	660
GGAAGGCACATGAGGACAATGAAGGTCTATACCAGAAACTCTCGTGACCCCAGCCTGGAG	720
2F mut	
GCCCACATTAAAGCCCTCaagtctcttgtctcctttttctgcttctttgtgatatcatcc	780
Lotor TTGCCTTCATCTCTGTGCCCCTACTGATTCTGTGGCGCGACAAAATAGGGGTGATG	840 * rs1726866 C/T
GTTTGTGTTGGGATAATGGCAGCTTGTCCCTCTGGGCATGCAGCCG/Atcctgatctcaggc	900 *10246939 6/7
	500 * ES10246939 G/A
2R mut	960
<u>aatgccaagttgaggagagctgtgatgaccat</u> TCTGCTCTGGGCTCAGAGCAGCCTGAAG	900
	1000
GTAAGAGCCGACCACAAGGCAGATTCCCGGACACTGTGCTGA	1002

La secuencia de nucleótidos está numerada en la dirección 5'-3 '. Las secuencias del cebador están en letras minúsculas y subrayadas. Las flechas por encima de las secuencias subrayadas indican los cebadores sentido (→) y antisentido (←) usados para amplificar la región genómica que cubre los SNPs de interés (A/G), mostrados en negrita, separados por una barra diagonal y marcados con un asterisco. Los nucleótidos insertados en los cebadores para crear mutagénesis en el fragmento se muestran por encima de la secuencia con una flecha (↓). También se muestra los códigos de los tres SNPs

Figura 15: Secuencia completa y SNPs del gen PTC (Feniltiocarbamida) del TAS2R38

Fuente: Orrú et al. (2015)

ATGTTGACTCTAACTCGCATCCGCACTGTGTCCTATGAAGTCAGGAGTACATTTCTGTTC	60
ATTTCAGTCCTGGAGTTTGCAGTGGGGTTTCTGACCAatgccttcgttttcttggtgaat	120
\frac{\psi *Hae \text{III}}{ttttgggatgtagtgaagaggc\text{ggcc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgtgtctctc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgtgtctctc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgtgtctctc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgtgtctctc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgtgtctcc}} \frac{\psi *Hae \text{III}}{\text{actgagcaacagtgattgttgtctcc}} \frac{\psi *Hae \text{actgagcaacagtgattgttgtctcc}}{\text{actgagcaacagtgattgttgtctcc}} \frac{\psi *Hae \text{actgagcaacagtgattgttgtctcc}}{\text{actgagcaacagtgattgttgtctccc}} \frac{\psi *Hae \text{actgagcaacagtgattgttgtctccc}}{\text{actgagcaacagtgattgttgtctccc}} \frac{\psi *Hae \text{actgagcaacagtgattgttgttgtctcccc}}{\text{actgagcaacagtgattgttgtctccccc}} \psi *Hae \text{actgagcaacagtgattgttgttgtctccccccccccc	180 * Allele c (18713598)
agcatcagccggcttttcctgcatggactgctgttcctgagtgctatccagcttacccac	240
ttccagaagttgagtgaaccactgaaccacagctaccaagccatcatcatgctatggatg	300
ATTGCAAACCAAGCCAACCTCTGGCTTGCTGCCTCAGCCTGCTTTACTGCTCCAAG	360
CTCATCCGTTTCTCACACCTTCCTGATCTGCTTGGCAAGCTGGGTCTCCAGGAAGATC	420
TCCCAGATGCTCCTGGGTATTATTCTTTGCTCCTGCATCTGCACTGTCCTCTGTGTTTGG	480
TGCTTTTTTAGCAGACCTCACTTCACAGTCACAACTGTGCTATTCATGAATAACAATACA	540
AGGCTCAACTGGCAGATTAAAGATCTCAATTTATTTTAT	600
TGGTCTGTGCCTCCTTTCCTATTGTTTCTGGTTTCTTCTGGGATGCTGACTGTCTCCCTG	660
GGAAGGCACATGAGGACAATGAAGGTCTATACCAGAAACTCTCGTGACCCCAGCCTGGAG	720
GCCCACATTAAAGCCCTCaagtctcttgtctcctttttctgcttctttgtgatatcatcc	780
$\Psi\Psi * Eco47 III$	
agcgctgccttcatctctgtgcccctactgattctgtggcgcgacaaaataggggtgatg	840 *Allele c (rs1726866)
* V Rsa I	900 * Allele g (rs10246939)
gtttgtgttgggataatggcagcttgtccctctgggcatgcagcc <u>gtadtgatctcaggc</u> 2R mut	500 · Andre & (1310240303)
aatgccaagttgaggagagctgtgatgaccat TCTGCTCTGGGCTCAGAGCAGCCTGAAG	960
GTAAGAGCCGACCACAAGGCAGATTCCCGGACACTGTGCTGA	1002

Catador (Alelo C de rs713598 C/G) y Super catador (Alelo C de rs1726866 C/T y Alelo G de rs10246939 G/A)

Figura 16: Mutagénesis del gen TAS2R38 que forma sitios de restricción para las enzimas *Hae*III, *Eco*47III y *Rsa*I para los alelos de catador y super catador

Fuente: Orrú et al. (2015)

Cebadores 2Fmut y 2Rmut: Utilizados para identificar los polimorfismos rs1726866 C/T y rs10246939 G/A del segundo y tercero SNP (C/T y G/A). Dichos cebadores permiten amplificar productos de 194 pb (del nucleótido 739 al nucleótido 932) del TAS2R38, que contiene ambos polimorfismos dentro de dicha secuencia.

El cebador 2Fmut se diseñó, según Orrú *et al.* (2015), introduciendo una doble desigualdad en su secuencia, en el segundo y el cuarto nucleótidos partiendo del extremo 3' y contiene, respectivamente, una citosina (C) en lugar de una tiamina (T) y una adenina (A) en lugar de una timina (T) (Figura 15). Por lo tanto su secuencia fue:

 $\mathbf{2Fmut}\;\mathbf{5'}\text{-}\mathsf{AAGTCTCTTGTCTCCTTTTTCTGCTTCTTTGTGATATCATCC}\overset{\bullet}{\mathbf{A}}\mathsf{G}\overset{\bullet}{\mathbf{C}}\mathsf{G-3'}$

De esta manera, los productos amplificados presentarían dicha sustitución, generando la primera A y la tercera C de la secuencia palindrómica de reconocimiento AGCGCT para la endonucleasa *Eco*47III, permitiendo el corte de la secuencia sólo cuando el fragmento presenta el alelo C, presente en los súper catadores (Figura 16).

El cebador inverso 2Rmut se diseñó, según Orrú et al. (2015), reemplazando una citosina (C) por una adenina (A) en el penúltimo nucleótido del extremo 3´ (Figura 16). Por lo tanto su secuencia fue:

2Rmut 5'-ATGGTCATCACAGCTCTCCTCAACTTGGCATTGCCTGAGATCAGTA-3'

De esta manera, los productos amplificados presentarían dicha sustitución, generando la primera G y la tercera A, de la secuencia palindrómica de reconocimiento GTAC para la endonucleasa *Rsa*I, permitiendo el corte de la secuencia sólo cuando el fragmento presenta el alelo G junto con el nucleótido A, presente en los súper catadores (Figura 16).

b. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La amplificación de los productos se realizó en un volumen de 50 µl (Tabla 13), utilizando la Kapa Taq polimerasa (Kapa Biosystems) y basado en lo establecido por Orrú *et al*. (2015).

Tabla 13: Master mix para PCR con 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut

N°	Componentes -	Master Mix para 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut	
		Volumen (µl)	Concentración final
1	Agua (grado biología molecular)	Variable	
2	Taq 10X Buffer	5	1X
4	dNTP's (10 mM)	1	0,2 mM
5	Fmut (10 uM)	1	0,2 uM
6	Rmut (10 uM)	1	0,2 uM
7	Taq K (5 U/ul)	0,2	1U
8	ADN	Variable	200 ng
	Volumen final	50	

c. Condiciones de amplificación para la PCR

Las condiciones de amplificación para la PCR se realizó tomando como referencia Orrú *et al.* (2015) y se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14: Condiciones de amplificación para la PCR con cebadores 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut

N°	Etapa	1Fmut/1Rmut	2Fmut/2Rmut	Ciclos
1	Desnaturalización inicial	95°C por 3 min	95°C por 3 min	
2	Desnaturalización	95°C por 50 s	95°C por 50 s	
3	Alineamiento	63°C por 40 s	68°C por 40 s	35
4	Extensión	72°C por 30 s	72°C por 30 s	
5	Extensión final	72°C por 5 min	72°C por 5 min	

Cabe señalar que se incluyó un control negativo, para cada par de cebadores, sustituyendo la muestra de ADN por agua de grado molecular.

3.7.6 Electroforesis de los productos de PCR en gel de agarosa

La evaluación de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,2 por ciento y por visualización de la tinción con bromuro de etidio (al 1 por ciento) en el gel de agarosa. La corrida se realizó a un voltaje de 100 V por 30 minutos.

En el gel de agarosa se cargó 5 μ l de cada producto de PCR y 1 μ l del tampón de carga (6X). Asimismo se realizó la carga del marcador de peso de 100 pb (pares de bases) Gene Ruler DNA Ladder (Thermo Scientific), en un volumen de 6 μ l (2 μ l del marcador, 1 μ l del tampón de carga (6X) y 3 μ l de agua de grado molecular).

La visualización de calidad de los productos de PCR se observó en el fotodocumentador de geles modelo SmartView Pro (Major Science), empleando una exposición de 100 por ciento UV.

3.7.7 Evaluación del Polimorfismo mediante RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción)

Con el fin de identificar los polimorfismo rs713598 C/G, rs1726866 C/T y rs10246939 G/A, los productos de PCR obtenidos con los cebadores 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut, fueron digeridos con enzimas de restricción. Para el caso del producto obtenido con los cebadores 1Fmut/1Rmut se empleó la enzima *Hae*III (Thermo Fisher Scientific) y para los productos obtenidos con los cebadores 2Fmut/2Rmut se empleó las enzimas *Eco*47III y *Rsa*I (Thermo Fisher Scientific).

La reacción de digestión, tomando como referencia el protocolo establecido por Orrú *et al.* (2015), se muestra en la Tabla 15. La digestión se realizó a 37 °C por 2 horas.

Tabla 15: Master Mix para PCR-RFLP para 1Fmut/1Rmut y 2Fmut/2Rmut

	_		Productos de PCR	
N °	Componentes _	1Fmut/1Rmut conteniendo el SNP rs713598 C/G Volumen (µl)	2Fmut/2Rmut conteniendo el SNP rs1726866 C/T Volumen (μl)	2Fmut/2Rmut conteniendo el SNP rs10246939 G/A Volumen (μl)
1	Producto de PCR	5,00	5,00	5,00
2	Buffer 10x	Buffer NE 2,00	Buffer O 2,00	Buffer Tango 2,00
4	Enzima (10 U/µl) Agua	HaeIII 2,00	<i>Eco47</i> III 2,00	<i>Rsa</i> I 2,00
5	desionizada estéril	11,00	11,00	11,00
	Volumen final	20	20	20

Buffer NE 10x (5 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol, pH 7,9). Buffer O 10x (50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 0,1 mg/ml BSA, pH 7,5). Buffer Tango 10x (33 mM Tris-acetato, 10 mM Mg-acetato, 66 mM de K-acetato, 0,1 mg/ml BSA, pH 7,9).

3.7.8 Electroforesis de los productos digeridos en gel de poliacrilamida

La evaluación de los productos de digestión con las enzimas *Hae*III, *Eco*47III asi como *Rsa*I se evaluaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida.

La tinción y revelado de los geles de poliacrilamida se realizó basándose en la metodología propuesta por Bassam *et al.* (1991), la misma que incluyó la etapas que se describen a continuación.

a. Preparación de la placa pequeña de vidrio (zona donde se adhiere el gel)

- Se limpió muy bien la placa de vidrio con alcohol etílico al 70 por ciento empleando papel tissue y se dejó secar a temperatura ambiente.
- En un tubo de microcentrífuga, se preparó la solución de adhesión mezclando 15 μl de Bind Silane y 15 μl de ácido acético glacial concentrado en 1,5 ml de alcohol etílico al 95 por ciento y se agitó la mezcla.
- Se esparció la solución de adhesión sobre toda la placa de vidrio con la ayuda de un papel tissue o papel Kim Wipes.
- Se dejó secar a temperatura ambiente por 30 min.
- Después de transcurrido el tiempo se removieron las partículas de polvo usando papel tissue. Esta limpieza se realizó en una dirección perpendicular, aplicando una ligera presión cuidando de no remover el Bind Silane a fin de evitar que el gel no se adhiera al vidrio.

b. Preparación de placa grande de vidrio (zona donde no se adhiere el gel)

- Se limpió muy bien la placa de vidrio con alcohol etílico al 70 por ciento empleando papel tissue y se dejó secar a temperatura ambiente.
- Usando un papel tissue o papel Kim Wipes humedecido con Repel Silane, se esparció completamente sobre toda la placa a fin de evitar que el gel se adhiera al vidrio.
- Se dejó secar a temperatura ambiente por 5 min.
- Momentos antes de iniciar el ensamblaje de los vidrios, se removieron las partículas de polvo usando papel tissue. Esta limpieza se realizó en una dirección perpendicular, aplicando una ligera presión a fin de evitar que el gel no se adhiera.

c. Ensamblaje de vidrios y preparación del gel de poliacrilamida

- Para el ensamblaje del sistema de vidrios se colocaron los espaciadores laterales e inferior, sobre la placa grande de vidrio (sobre el lado tratado).
- Asimismo sobre ella se colocó la placa pequeña de vidrio de manera que los lados tratados quedaron frente a frente.
- Se aseguró que las esquinas y los puntos medios del sistema sean sujetados con abrazaderas metálicas que ejerzan igual presión en los lados inferior y laterales.

- Se colocó el peine adecuado (de espesor 1 mm) en la parte superior del sistema de vidrios.
- Se preparó 60 ml de solución de poliacrilamida (6 por ciento; 7 M urea), para ello se adicionó 40 μl de Temed y 450 μl de Persulfato de amonio al 10 por ciento y se mezcló agitando suavemente.
- Se tomó la solución de poliacrilamida y se vertió por encima de una de las esquinas del peine en el sistema de vidrios ensamblados, de una manera continua y dando golpecitos encima del vidrio superior, a fin de evitar la formación de burbujas y se dejó secar a temperatura ambiente por 30 minutos.

d. Pre corrida de la cámara electroforética, preparación y cargado de las muestras y corrida

- Al cabo del tiempo esperado se retiró el peine con ayuda de agua potable corriente y se lavó los residuos de gel de poliacrilamida formados en la cámara electroforética.
- Se llevó el sistema ensamblado a la cámara electroforética conectada al sistema de energía. La electroforesis se corrió en un buffer conteniendo 100 mM de Tris, 83 mM de HCl, 1 mM de ácido bórico y Na₂EDTA a pH 8,3; el mismo que con ayuda de una jeringa hipodérmica sirvió para retirar las burbujas de la parte superior e inferior del gel.
- Se pre corrió la electroforesis a un voltaje 1600 voltios por un espacio de 20 minutos.
- Durante dicho espacio de tiempo se prepararon las muestras y se mezcló 5 μl de muestra de la digestión PCR-RFLP con 5 μl de tampón de carga (conteniendo 5 M de urea y 0,0008 por ciento xylene cyanol FF) y se llevaron a desnaturar por 5 minutos a 94 °C, e inmediatamente se enfriaron sobre hielo para su carga en el gel de poliacrilamida.
- Transcurrido el tiempo de pre corrida se cargaron las muestras preparadas en los espacios formados por el peine, empleando tips de único uso y cuidando de no formar burbujas.
- Asimismo se realizó la carga del marcador de peso Gene Ruler DNA Ladder de 50 pb en un volumen de 5 μl con 5 μl de tampón de carga.
- Se realizó la corrida a un voltaje de 400 voltios por un tiempo de 3 horas hasta que el buffer de carga llegara a la parte final del gel.

e. Lavado y revelado del gel de poliacrilamida

- Al finalizar la corrida de electroforesis, se desmontó el sistema ensamblado se separó de la cámara el vidrio con el gel adherido.
- Dicho vidrió se sumergió, con la cara del gel hacia arriba, en una cubeta conteniendo una solución de ácido acético al 10 por ciento que cubrió todo la superficie, por un espacio de 20 minutos para la fijación del ADN y se agitó constantemente
- Luego se retiró el vidrio y se lavó el exceso de ácido acético con agua destilada.
- En seguida se llevó a cabo la tinción del gel; para ello se sumergió el vidrio con el gel en una solución de nitrato de plata (1 g/L) por 30 minutos y se agitó constantemente.
- Finalizado dicho tiempo, se lavó el gel con agua destilada durante 6 segundos.
- Posteriormente se reveló los productos de PCR-RFLP sumergiendo el vidrio con el gel en una solución de carbonato de sodio (30 g/L) preparada con formaldehido al 0,05 por ciento y tiosulfato de sodio (2 mg/L) por un tiempo aproximado de 6 minutos hasta la visualización de las bandas.
- Para detener la reacción de revelado, se retiró el vidrio con gel de la solución reveladora y se colocó en una solución de ácido acético al 10 por ciento durante diez minutos y finalmente se lavó con agua destilada.
- Se dejó secar a temperatura ambiente por un tiempo de 3 a 5 horas y se registró la imagen revelada empleando una cámara fotográfica digital (Fuji Film), para su posterior análisis.

3.8 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La metodología experimental se organizó en función al alcance de los objetivos específicos.

3.8.1 Evaluación de propiedades físicoquímicas y funcional-tecnológicas

Se realizó la evaluación de las tres variedades de Quinua: Rosada de Huancayo, Blanca de Hualhuas y Pasankalla a través de la secuencia de actividades presentadas en la Tabla 16.

a. Caracterización Inicial. Esta etapa comprendió las siguientes actividades: Clasificación de grados de calidad de los granos de las tres variedades de quinua, la determinación del análisis proximal, la determinación del contenido de saponinas, así como la evaluación microbiológica.

- b. **Desaponificación**. Se siguió la metodología reportada por Mujica *et al.* (2006), a través de las operaciones de limpieza de impurezas, remojo en agua por 30 minutos, lavado en agua (tres a temperatura de 70 °C y el cuarto a temperatura de 20 °C) y posterior secado a temperatura de 70-75 °C; así como la posterior evaluación del contenido de saponinas.
- c. Extracción del almidón. Esta etapa comprendió la obtención de harinas, empleando un precesador de alimentos (Marca Panasonic, Modelo MJ-W176P, Japan) y posterior tamizado en un tamiz de malla N° 60 stainless steel. A partir de la harina se realizó la extracción del almidón de las tres variedades de quinua; se siguió la metodología propuesta por Steffolani *et al.* (2013). La harina de quinua fue suspendida en hidróxido de sodio al 0,25 por ciento peso/volumen en una proporción 1:5. Se agitó durante 5 minutos y se centrifugó a 2465 g por 20 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se lavó el precipitado con agua. La suspensión se filtró empleando un tamiz con malla N° 270. Se colectó el filtrado y se centrifugó (2465 g por 20 minutos) y el precipitado (almidón de quinua) se secó a 30°C por 24 horas. Los agregados de almidón fueron molidos en una licuadora (Philips HR1605/01, Netherlands), luego se tamizó en un tamiz de malla N° 200 y el almidón se envasó en frascos de vidrio con tapa y se almacenó a 8 °C para su posterior análisis.
- d. Caracterización fisicoquímica y funcional-tecnológica. Esta etapa comprendió las actividades de evaluación del rendimiento de almidón, determinación del análisis proximal, determinación de la capacidad de absorción de agua (WHC), cuantificación de la relación amilosa-amilopectina, obtención de las propiedades térmicas mediante DSC, obtención de las propiedades de pegado mediante RVA, evaluación de la firmeza y sinéresis de los geles de los almidones por pruebas de penetración, obtención de difractogramas de rayos X, además de la forma (Microcospía SEM) y análisis del tamaño de partícula, de los almidones de las tres variedades de quinua.

3.8.2 Evaluación de la calidad sensorial del sabor amargo

Previo a la evaluación de la calidad sensorial del sabor amargo, se realizó la conformación del panel de jueces entrenados, a través de las ejecución de las etapas: entrenamiento y evaluación del desempeño de los jueces entrenados, quienes posteriormente realizaron la evaluación del sabor amargo de las tres variedades de Quinua: Rosada de Huancayo, Blanca de Hualhuas y Pasankalla, tal como se muestra en la Tabla 17.

3.8.3 Evaluación del polimorfismo del Gen TAS2R38 en el panel de jueces entrenados

En relación a la evaluación del polimorfismo del Gen TAS2R38, a través de la reacción en cadena PCR-RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción) para identificar las diferencias genéticas relacionadas con la sensibilidad al sabor amargo en jueces sensoriales entrenados, se realizaron las etapas de la colecta de células bucales, extracción y evaluación de ADN genómico, amplificación mediante PCR y evaluación de los polimorfismos mediante RFLP, siguiendo lo indicado en la Tabla 18.

3.9 PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS

En las evaluaciones de las propiedades físicoquímicas, funcional-tecnológicas y moleculares se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de un factor (Montgomery, 2002). En los casos en que se encontró diferencias significativas se procedió a realizar la prueba de Fischer (LSD). Las pruebas estadísticas se hicieron considerando un nivel de significancia p < 0.05.

En las etapas de conformación del panel de jueces entrenados en la evaluación de la intensidad del sabor amargo, se aplicó el diseño de bloques completamente al azar (DBCA) (Montgomery 2002 y 2010). A fin de demostrar que se encuentran entrenados se utilizó la determinación del coeficiente de concordancia de Kendal (W), la prueba de signos de la mediana y la prueba no paramétrica de Friedman según lo establecido por Siegel y Castellan (1995). Se aplicaron los programas estadísticos Minitab 18 e IBM SPSS Statistics Versión 24.

Tabla 16. Diseño experimental de la evaluación de propiedades físico químicas y funcional-tecnológicas

	Etapa						
Objetivo	Caracterización Inicial	Desaponificación	Extracción del Almidón	Caracterización Fisicoquímica y Funcional- Tecnológica			
Estudiar las propiedades físicoquímicas y funcionaltecnológicas de los granos de tres variedades de quinua: Blanca de Hualhuas, Rosada de Huancayo y Pasankalla, provenientes de la Región Junín.	 Clasificación de grados de calidad de los granos. Determinación del Análisis Proximal: humedad, proteínas, grasa, fibra cruda, cenizas y carbohidratos. Determinación del contenido de saponina. Recuento de aerobios mesófilos viables, mohos, coliformes, Bacillus cereus y Salmonella sp. 	 Metodología	- Métodología de Steffolani et al. (2013).	- Determinación del Análisis Proximal: humedad, proteínas, grasa, fibra cruda y cenizas Determinación del contenido de almidón, amilosa y amilopectina - Forma y tamaño del gránulo de almidón Patrones de difracción de rayos X Propiedades térmicas mediante DSC Propiedades de pegado mediante RVA Propiedades de los geles de almidón: Capacidad de retención de agua (WHC) firmeza y sinéresis.			

Tabla 17. Diseño experimental de la determinación de la calidad sensorial

Tres Variedades de Quinua: Rosada de Huancayo, Blanca de Hualhuas y Pasankalla						
		Etapa				
Objetivo	Entrenamiento	Evaluación del Desempeño	Evaluación del Sabor Amargo en Quinua			
Determinar la calidad sensorial de las tres variedades de quinua a través de la conformación de un panel sensorial entrenado en la evaluación del sabor amargo en quinua.	 Determinación del umbral de identificación. Prueba de emparejamiento. Prueba de comparación por parejas. Prueba triangular. Prueba de ordenamiento. Entrenamiento en el uso se la escala lineal no estructurada. Entrenamiento final. 	 Pruebas de ordenamiento. Prueba triangular. Evaluación del sabor amargo con la escala lineal no estructurada. 	- Evaluación del sabor amargo en quinua con la escala lineal no estructurada.			

Tabla 18. Diseño experimental de la evaluación del polimorfismo del gen TAS2R38 en el panel de jueces entrenados

	Panel de Jueces Entrenados						
		Eta	apa				
Objetivo	Colecta de células bucales	Extracción y evaluación de ADN genómico	Amplificación de genes a través de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Evaluación del polimorfismo mediante RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción)			
Evaluar las diferencias genéticas, relacionadas con la sensibilidad al sabor amargo, en panelistas sensoriales entrenados a través del polimorfismo del Gen TAS2R38 aplicando PCR- RFLP.	 Evaluación del estado del catador de PROP (6-n-Propiltiouracilo). Colecta de células bucales. 	 Pretratamiento de las muestras de enjuague bucal. Extracción de ADN genómico con Wizard® Genomic DNA Purification Kit. Evaluación del ADN (concentración, pureza y calidad o integridad). 	 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con Cebadores 1Fmut y 1Rmut y 2Fmut y 2Rmut. Electroforesis de los productos de PCR en gel de agarosa. 	 Digestión con enzimas de restricción para PCR-RFLP. Electroforesis de los productos del PCR-RFLP en gel de poliacrilamida. 			

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIEDADES DE QUINUA

En función a la metodología experimental se realizó la evaluación de las tres variedades de quinua Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY), y Pasankalla (PK), a través de clasificación por grados de calidad, contenido de saponina, análisis proximal y análisis microbiológico.

4.1.1 Clasificación por tamaño y por grados de calidad

En la Tabla 19 se presenta los resultados de la clasificación por grados de calidad de las variedades quinua evaluadas como grado procesado (beneficiado). Se observa que las tres variedades presentan Grado 1, de acuerdo a los requisitos del INDECOPI (2014c), principalmente por la ausencia de insectos y piedrecillas, y por el contenido de granos enteros como mínimo de 97 por ciento. Asimismo las tres variedades presentaron un tamaño, en promedio, correspondiente a grano grande (mayor a 1,68 mm).

Tabla 19. Grados de calidad de los granos de las tres variedades de quinua

	Características	Blanca de Hualhuas	Rosada de Huancayo	Pasankalla (PK)		ECOPI 014c)
		(BH)	(RHY)	(FK)	Min	Max
Tai	maño promedio de granos (mm)	2,10	2,12	1,98	1,7	
	Granos enteros	99	98	97	97	
aje)	Granos quebrados	0,6	0,8	1,0		1,0
inte	Granos dañados					0,5
ıce	Granos germinados					0,25
od)	Granos recubiertos					0
es	Granos inmaduros					0,5
ria	Impurezas totales	0,02	0,04	0,1		0,25
Senso	Piedrecillas (en 100 g de muestra)	Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia
SO	Granos contrastantes					0,5
Parámetros Sensoriales (porcentaje)	Insectos (enteros, partes o larvas)	Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia
Pa	Grado	1	1	1	G	rado 1

4.1.2 Composición química y contenido de saponinas de las variedades de quinua

La composición química de las variedades de quinua, se presenta en la Tabla 20 y en el Anexo 9 la evaluación estadística de los componentes o características evaluadas. Se observa en general que los componentes, por variedad, cumplen con lo establecido en la Norma Técnica Peruana para granos andinos: Quinua (INDECOPI, 2014c). Las quinuas BH y RHY presentan niveles de componentes diferentes a las quinuas dulces: Blanca y Rosada, provenientes de Junín, respectivamente (CENAN-INS, 2009), cuya mayor diferencia se observó en el contenido de proteínas. Miranda *et al.* (2013) señalan que la composición del suelo (biodisponiblidad de nitrógeno) y el lugar de proveniencia del grano, influyen en su contenido de proteínas.

Tabla 20. Composición química de las tres variedades de quinua (porcentaje)

Componentes		Vai	Variedades de quinua				N-INS 009)
		Blanca de Rosada de Hualhuas Huancayo (BH) (RHY) Pasankalla (PK)		COPI (2014c)	Blanca dulce de Junín	Rosada dulce de Junín	
Humedad	bh	10,09±0,03c	11,38±0,01b	12,23±0,03a	Max,	11,1	11.0
пишецац	bs	11,22±0,04c	12,84±0,01b	13,93±0,03a	12,5	11,1	11,0
Proteína	bh	$17,43\pm0,00$	$15,44\pm0,00$	$17,19\pm0,07$	Min,	11,1	12,3
Fioteilla	bs	19,39±0,01b	17,42±0,00c	19,59±0,09a	10,0		12,3
Cuana	bh	$8,15\pm0,03$	$5,72\pm0,02$	$5,61\pm0,04$	M: 40	7,7	7,2
Grasa	bs	$10,12\pm0,04a$	$6,93\pm0,02b$	$6,98\pm0,04b$	Min. 4,0		
Fibra	bh	$5,89\pm0,10$	$4,79\pm0,01$	$5,86\pm0,00$	M: 2.0	<i>c</i> 0	7.0
cruda	bs	$6,55\pm0,11a$	5,15±0,01c	6,30±0,00b	Min. 2,0	6,0	7,9
Camina	bh	$3,62\pm0,01$	$2,67\pm0,02$	$3,41\pm0,01$	Mar. 25	2.7	2.7
Ceniza	bs	3,87±0,01a	2,82±0,02c	3,64±0,01b	Max. 3,5	2,7	2,7
Carbohi-	bh	60,71±0,01	64,79±0,01	61,57±0,04		67.4	<i>(7.1</i>
dratos	bs	66,63±0,04c	72,84±0,01a	69,81±0,03b		67,4	67,1
Cononina	bh	$0,38\pm0,00$	$0,09\pm0,00$	$0,01\pm0,00$			
Saponina	bs	$0,42\pm0,00a$	$0,10\pm0,00b$	$0,01\pm0,00c$			

bh: base húmeda / bs: base seca

Valores seguidos por diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes (p < 0.05)

El contenido de humedad de las quinuas BH, RYH y PK (10,09 – 12,23%) mostró diferencias significativas y se encontró en el rango de 8,2 – 14,1% reportado por Nowak *et al.* (2016), Li y Zhu (2017) y Contreras-Jiménez *et al.* (2019).

El contenido de proteínas (bs) de la quinua RHY (17,42 por ciento) fue superior al rango 13,8-16,5 por ciento (Wright *et al.*, 2002; Elsohaimy *et al.*, 2015; Mota *et al.*, 2016; Navruz y Sanlier, 2016). Los niveles en las quinuas BH (19,39 por ciento) y PK (19,59 por ciento) fueron cercanos al límite superior del rango 10,21-18,39 por ciento reportado por Rojas *et al.* (2014), correspondiente a la evaluación de 555 accesiones de quinua del germoplasma de Bolivia. Hubo diferencia significativa en el contenido de proteína entre las quinuas BH, RHY y PK, siendo de mayor nivel en la quinua PK. Asimismo la proteína de la quinua BH fue mayor a lo reportado para la quinua Blanca de Junín (13,64 por ciento) y la proteína de la quinua PK fue mayor a lo reportado para la quinua Pasankalla roja de Puno (12,68 por ciento) (Arzápalo *et al.*, 2015).

El contenido de grasa (bs) de las quinuas BH, RHY y PK (6,93-10,12 por ciento) se encontró dentro del rango de 2,05-10,88 por ciento (Rojas *et al.*, 2014), el que incluye los reportados por Koziol (1992) e IICA (2015) (5,6-7,5 por ciento). En cuanto al contenido de grasa, no hubo diferencia significativa entre la quinua RHY y PK, siendo inferior a la quinua BH (10,12 por ciento).

En relación a la fibra cruda, el contenido (bs) 5,15-6,55 por ciento se encontró dentro del rango 3,46-9,48 por ciento (Rojas *et al.*, 2014), con valores superiores a 1,92-3,38 por ciento reportado por Repo-Carrasco-Valencia y Astuhuaman-Serna (2011) y 3,3±2,0 por ciento (Nowak *et al.*, 2016). Hubo diferencia significativa en el contenido fibra cruda entre las quinuas BH, RHY y PK, siendo de mayor nivel que en la quinua BH.

El contenido de ceniza (bs) de las quinuas BH, RHY y PK fue significativamente diferente, con valores de 2,82-3,87 por ciento, los que se encontraron dentro del rango 2,12-5,21 por ciento (Rojas *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2002; Koziol, 1992).

En el contenido carbohidratos (bs) se observó diferencia significativa entre las quinuas BH, RHY y PK, con valores de 66,63-72,84 por ciento, contenidos entre 52,31-72,98, reportados por Rojas *et al.* (2014), USDA (2005) y Wright *et al.* (2002).

El rendimiento del grano de quinua así como su composición nutricional, varía entre accesiones, debido a la fuerte variabilidad genética sumada a la influencia de las condiciones ambientales (Miranda *et al.*, 2013). La interesante composición química de la quinua peruana lo convierte en un ingrediente potencial para obtener productos nutritivos y se vuelve un ingrediente atractivo para diferentes formulaciones de alimentos, incluidos postres de frutas, harinas de cereales y otros.

En general, los granos de quinua contienen saponinas en su cubierta (a excepción de las variedades dulces), sin saponina o con menos del 0,11 por ciento. Las saponinas son el principal factor de antinutricional presentes en la cubierta de la semilla (Ruales y Nair, 1994a,b), la cual debe ser eliminada antes de su consumo. La evaluación de la saponina se realizó en los granos no procesados (beneficiado) y mostró diferencias significativas entre las variedades BH, RHY y PK. La quinua PK presentó el menor contenido de saponina (0,01 por ciento), por lo que se consideró una variedad dulce al igual que la quinua RHY (0,10 por ciento). Gómez-Caravaca *et al.* (2014) y Koziol (1992) establecen que los genotipos dulces contienen saponina <0,11 por ciento en base húmeda. La variedad de quinua BH se consideró amarga al presentar un nivel 0,42 por ciento de saponina, dentro del rango de 0,14 a 2,3 por ciento, establecido para quinuas amargas según Mastebroek *et al.* (2000). El contenido de saponina está influenciado por la variación genética y el sabor amargo se encuentra controlado por un sólo gen dominante, y el nivel de amargor es cuantitativamente heredado (Masterbroek *et al*; 2000).

4.1.3 Análisis microbiológico de las variedades de quinua

En la Tabla 21 se presenta los resultados de los análisis microbiológicos de los granos de quinua de las tres variedades, los mismos que cumplieron con lo establecido por el INDECOPI (2014c), condición que hizo de estas variedades aptas para su comercialización y uso.

Tabla 21. Resultados del análisis microbiológico de las tres variedades de quinua

	Blanca de			INDECOPI (2014c)			
Requisitos	Hualhuas (BH)	Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)	n	C	m	M
Aerobios mesófilos (ufc/g)	<10	690	3×10^{2}	5	2	10^{4}	10^{6}
Mohos (ufc/g)	180	495	$4,5 \times 10^2$	5	2	10^{4}	10^{5}
Coliformes (ufc/g)	<10	<10	<10	5	2	10^{2}	10^{3}
Bacillus cereus (ufc/g)	<100	<100	<100	5*	1*	102*	104*
Salmonella sp. (Ausencia/25g)	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	5	0	Ausend	cia/25g

^(*) Requisito establecido INDECOPI (2009).

Los coliformes (categoría 5) indicador de higiene inadecuada, los patógenos como *Bacillus cereus* (categoría 8) con riesgo moderado, y *Salmonella* sp (categoría 10) con riesgo moderado directo (peligroso para la salud) (MINSA, 2008), en las variedades de quinua evaluadas, se encuentran en niveles bajos con respecto a los límites establecidos.

Los aerobios mesófilos y los mohos (categoría 2) indicadores de alteración y asociados con la vida útil de los productos (MINSA, 2008), incluyen géneros y especies que pueden ser nocivos para el ser humano, directamente por infección (bacterias), o indirectamente por toxinas de mohos, por lo que se requiere de su control (Larrañaga *et al.*, 1999). En el Perú, en relación a la prevención y control de contaminantes y toxinas en quinua, el Servicio Nacional de Sanidad Agraria ha realizado la evaluación de mohos y levaduras así como la cuantificación de aflatoxina y ocratoxina en quinuas provenientes de diez regiones, cuyos resultados han permitido definir e implementar medidas que mitiguen su presencia, basados en la aplicación de Buenas Prácticas de Producción e Higiene (SENASA, 2014).

4.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE ALMIDONES DE QUINUA

Como etapa preliminar a la extracción del almidón se realizó la desaponificación de los granos de quinua, siguiendo la metodología propuesta por Mujica *et al.* (2006) (3.9.1.b). A partir de los granos secos se obtuvieron las harinas de quinua y siguiendo la metodología de Steffolani *et al.* (2013) (3.9.1c) se obtuvieron los almidones.

En la Tabla 22 se presenta la composición química de los almidones de quinua en estudio y en el Anexo 10 la evaluación estadística de los componentes evaluados. El rendimiento de los almidones de las quinuas BH, RHY y PK (29,6-32,7 por ciento) presentó diferencias significativas (p<0,05). Dicho rango fue superior al reportado para variedades provenientes de Ayacucho, Puno y Junín (18,95-30,62 por ciento); así el rendimiento del almidón de la quinua BH de la región Junín (32,7 por ciento) fue superior al almidón de Blanca de Junín (30,62 por ciento) y el rendimiento del almidón de la quinua PK (30,50 por ciento) de la región Junín fue superior al almidón Pasankalla roja de Puno (26,71 por ciento) (Arzápalo *et al.*, 2015).

Tabla 22. Composición química, rendimiento, tamaño y cristalinidad del almidón de las tres variedades de quinua

Componentes (porcentaje)		Variedades de quinua				
		Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)		
Humedad	bh	11,18±0,10a	10,60±0,03b	10,60±0,11b		
пишецац	bs	12,59±0,13a	$11,86\pm0,04b$	11,85±0,13b		
Proteína	bh	$0,63\pm0,00$	$0,52\pm0,00$	$0,65\pm0,00$		
Proteina	bs	$0,71\pm0,00b$	$0,58\pm0,00c$	$0,73\pm0,00a$		
Grasa	bh	$0,53\pm0,02$	$0,83\pm0,02$	$0,85\pm0,03$		
Grasa	bs	$0,60\pm0,03b$	$0,93\pm0,02a$	$0,95\pm0,03a$		
T21 1	bh	$1,37\pm0,02$	$1,03\pm0,01$	$1,04\pm0,01$		
Fibra cruda	bs	1,55±0,03a	1,15±0,01b	1,16±0,01b		
Ceniza	bh	$1,21\pm0,02$	$1,36\pm0,03$	$2,07\pm0,01$		
Celliza	bs	1,37±0,02c	1,53±0,04b	2,32±0,00a		
Almidón	bh	52,91±0,03	$55,76\pm0,06$	$48,09\pm0,09$		
Allilluoli	bs	59,57±0,03b	$62,37\pm0,05a$	53,79±0,04c		
Amilosa	bh	13,63±0,06	$12,81\pm0,05$	$10,08\pm0,05$		
Allilosa	bs	$15,35\pm0,05a$	14,33±0,07b	11,28±0,06c		
Amilonactina	bh	$86,37\pm0,06$	$87,19\pm0,05$	$89,92\pm0,05$		
Amilopectina	bs	$84,65\pm0,05c$	85,68±0,06b	$88,73\pm0,06a$		
Rendimiento		32,70±0,01a	29,60±0,03c	30,50±0,04b		
Tamaño (µm)		$1,495\pm0,20a$	$1,360\pm0,15a$	$1,075\pm0,04b$		
Cristalinidad		36,90±0,00c	37,50±0,00b	39,20±0,00a		

Bh = base húmeda / bs = base seca

Valores seguidos por diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes (p<0.05)

La humedad 10,60-11,18 por ciento se encontró en el rango de 10-12 por ciento, reportado para almidones de cereales (Tester *et al.*, 2004), no habiendo diferencia significativa entre los almidones RHY y PK, que fueron inferiores a BH (11,18 por ciento). Li *et al.* (2016), en la evaluación de almidones de quinua provenientes del Perú obtuvieron 8,7±0,2-10,0±0,9 por ciento y para otras procedencias hasta 14,0±0,3 por ciento. El contenido de humedad del almidón seco varía de 6 a 16 por ciento, dependiendo del proceso utilizado para secar el almidón así como de los factores climáticos. Niveles altos de humedad pueden provocar daños microbianos y un deterioro de la calidad, por lo que en la mayoría de países productores, el nivel máximo se ha establecido en 13 por ciento (Moorthy *et al.*, 2002).

El contenido de proteínas (bs) 0,58-0,73 por ciento se encontró relacionado al rango 0,1-1,2 por ciento obtenido por Lindeboom *et al.* (2005) en almidones de quinua. Los almidones BH, RHY y PK presentaron diferencias significativas en el contenido de proteínas, dichos niveles fueron inferiores que en los almidones obtenidos por Steffonali *et al.* (2013) con el

mismo método de extracción de almidón. Asimismo el almidón RHY (0,58 por ciento) presentó un contenido de proteína similar al de almidones purificados (<0.6 por ciento) (Tester *et al*; 2004), el almidón BH (0,71 por ciento) similar al almidón de maíz normal (0,69 por ciento de proteína) (Lindeboom, 2005) y el almidón PK (0,73 por ciento) presentó un contenido de proteína menor al almidón de quinua Pasankalla (4,86±0,58 por ciento), cuyo nivel alto evidenció el no uso de NAOH en la extracción y su arrastre con el almidón en la etapa de decantación (Ramos, 2014); asimismo fue mayor al reportado por Arzápalo *et al*. (2015) (0,27 por ciento).

En el almidón las proteínas, en común con los lípidos, se presentan en la superficie y se incrustan en la matriz de los gránulos (independientemente del origen) (Tester *et al*; 2004). En el endosperma los gránulos se encuentran empaquetados, formando agregados unidos fuertemente mediante estructura proteica, cuando los gránulos son pequeños se requiere altos contenidos de proteína para la formación de los agregados, condición observada en el almidón de quinua (Ramos, 2014). Asimismo la proteína tiene el potencial de moderar la funcionalidad del almidón (Appelqvist y Debet, 1997). En el trigo, la proteína superficial (friabilina) se asocia con la dureza del grano (Morris, 2002).

El contenido de grasa (bs) de los almidones (0,60-0,95 por ciento) fue inferior al rango 0,90±0,27-2,08±0,52 por ciento reportado por Ramos (2014), e inferior a 4,18-5,66 por ciento (Arzápalo *et al.*, 2015). En el caso del almidón Pasankalla (PK) (0,95 por ciento) fue inferior a 2,08±0,52 por ciento reportado por Ramos (2014) y a 4,78 por ciento reportado por Arzápalo *et al.* (2015) para almidón de quinua Pasankalla, atribuido al método de extracción empleado.

Según Tester *et al.* (2004) los almidones de cereales contienen lípidos integrales en forma de lisofosfolípidos (LPL) y ácidos grasos libres (FFA) correlacionados positivamente con la fracción de amilosa. Los gránulos también pueden estar contaminados con lípidos superficiales (triglicéridos, glicolípidos, fosfolípidos y ácidos grasos libres). Los lípidos en la amilosa forman un complejo de inclusión donde las cadenas de ácidos grasos ocupan un núcleo hidrofóbico ubicado dentro de la única hélice de amilosa. La cantidad de amilosa complejada con lípidos oscila entre 15 y 55 por ciento de la fracción de amilosa en almidones de cereales (Morrison, 1995).

Asimismo los lípidos afectan significativamente el grado de hinchamiento, con un efecto reductor en el gránulo de almidón. Los ácidos grasos libres en el complejo amilosa-lípido contribuyen a temperaturas de transición más altas (almidones más duros) y a una mayor

retrogradación. Por otro lado los lípidos superficiales se oxidan y contribuyen al llamado olor a cereales (Singh *et al*; 2003).

En los almidones el contenido de fibra cruda (bs) 1,15-1,55 por ciento fue superior al rango 0,1-0,24 por ciento (Jan *et al.*, 2017; Steffolani *et al.*, 2013), sin embargo fue inferior al rango 1,96-3,13 por ciento obtenido por Arzápalo *et al.* (2015) en almidones de quinua. Los almidones RHY y PK no presentaron diferencias significativas en el contenido de fibra cruda y el almidón BH presentó el mayor nivel (1,55 por ciento). Los niveles fueron inferiores a los almidones obtenidos por Steffonali *et al.* (2013) con el mismo método de extracción de almidón. El contenido de fibra en un almidón varía en gran medida dependiendo del tamiz utilizado para la eliminación del material fibroso durante la extracción, y afecta sus propiedades (Moorthy, 2002).

En los almidones BH, RHY y PK el contenido de ceniza (1,37-2,32 por ciento) presentó diferencias significativas; los niveles se encontraron relacionados a 0,18-1,64 por ciento (Jan et al., 2017; Steffonali et al., 2013), y fueron superiores a 0,30 – 0,46 por ciento reportados por Arzápalo et al. (2015). El almidón contiene cantidades muy pequeñas de minerales y sales inorgánicas, estos compuestos se analizan e informan colectivamente como "ceniza"; la variación en almidones nativos depende principalmente de la fuente u origen y de las regiones de procedencia (Luallen, 2004).

El contenido de almidón en los granos de las tres variedades de quinua BH, RHY y PK (53,79-62,37 por ciento) presentó diferencias significativas. Se encontró relacionado al rango 55,2-69,2 por ciento (USDA, 2005; Mundigler, 1998). El almidón BH (59,57 por ciento) y PK (53,79 por ciento) fueron respectivamente similares a los almidones de quinua blanca (59,5 por ciento) y negra (53,2 por ciento) reportados por Wu *et al.* (2017).

Los almidones de quinua BH, RHY y PK presentaron contenidos de amilosa, significativamente diferentes (p<0,05) y en el rango 11,28-15,35 por ciento, el que se encontró dentro de lo reportado para almidones de quinua 3,5-22,5 por ciento (Qian y Kuhn, 1999; Tang *et al.*, 2002; Tari *et al.*, 2003; Lindeboon, 2005 y Contreras-Jiménez *et al.*, 2019). Los niveles obtenidos fueron mayores al contenido de amilosa que en los almidones de las variedades de Bolivia (9,22-10,33 por ciento) (Steffolani *et al.*, 2013), así como a 11,0 por ciento (Atwell *et al.*, 1983). La amilosa del almidón PK (11,28 por ciento) fue mayor al almidón Pasankalla (6,7 por ciento±0,078 por ciento) (Ramos, 2014).

Según Tester *et al.* (2004), los almidones de las variedades BH, RHY y PK se clasifican como almidones cerosos ya que poseen un contenido de amilosa <15 por ciento; dichos almidones podrían conservarse mejor, ya que los almidones con altos niveles de amilosa tienden a retrogradar, y constituyen la principal causa de deterioro a corto plazo (Hizukuri *et al.*, 1981).

Almidones con bajo contenido de amilosa, como el almidón PK (Pasankalla), son altamente estables a la congelación y descongelación, además muestran poca retrogradación (Lorenz, 1990; Ahamed *et al.*, 1996a). La retrogradación del almidón es un problema cuando el gel se congela y se descongela, como sucede con muchos productos alimenticios; al descongelarse, el agua del gel debido a la realineación de las moléculas es rechazada, proceso conocido como sinéresis. Cuando el contenido de amilosa del almidón es bajo, la extensión de la sinéresis se reduce y la pasta de almidón se estabiliza más al congelar y descongelar (Bean y Setser, 1992).

El almidón de quinua con bajo contenido de amilosa presenta una textura de gel más blanda y un buen rendimiento en procesos de extrusión o inflado, sin embargo, probablemente no sean adecuados para ensaladas o platos instantáneos de quinua. Asimismo quinuas con mayor contenido de amilosa producen una textura dura, más pegajosa, más cohesiva, más gomosa y más dura después de la cocción (Wu *et al.*, 2017).

En cuanto al contenido de amilopectina el almidón PK con mayor nivel (88,73 por ciento) presentó diferencias significativas con respecto a los almidones BH (84,65 por ciento) y RHY (85,68 por ciento). Los niveles observados fueron superiores al contenido de amilopectina (77,5 por ciento) reportado por Tari *et al.* (2003).

Almidones con alto contenido de amilopectina, como lo observado en el almidón PK, se usan para mejorar la uniformidad, estabilidad, textura de alimentos, y por su estabilidad en el congelado y descongelado (Slattery *et al.*, 2000). El hinchamiento del almidón es una propiedad dependiente de su contenido de amilopectina, y la amilosa actúa como un diluyente y un inhibidor del hinchamiento (Tester y Morrison, 1990).

4.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

El almidón se produce naturalmente como partículas discretas, llamadas gránulos (Wani *et al.*, 2012). La variación en la forma y tamaño de los gránulos se atribuye al origen biológico del cual se aísla el almidón. La morfología de los gránulos de almidón depende de la bioquímica del cloroplasto o amiloplasto, de la fisiología de la planta (Singh *et al.*, 2003), así como de las condiciones climáticas y de las prácticas agronómicas (Wani *et al.*, 2012).

Las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) de los gránulos de almidón de las quinuas BH, RHY y PK se presentan en la Figura 17. Las formas de los gránulos de almidón de las tres variedades fueron similares, es decir irregulares, poligonales y angulares, forma típica de los pequeños gránulos de almidón de quinua con características de superficie similares a los almidones evaluados por Tang *et al.* (2002), Lindeboom *et al.* (2005), Steffolani *et al.* (2013), Jan *et al.* (2017), Contreras-Jimenez *et al.* (2019) y Fuentes *et al.* (2019).

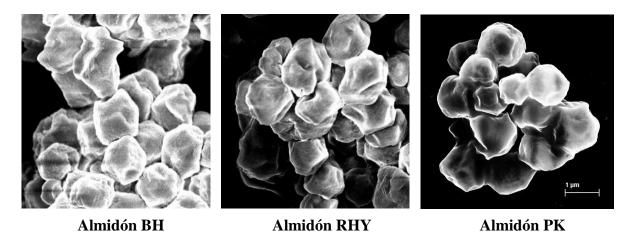


Figura 17: Micrografías de microscopia electrónica de barrido (SEM) de los almidones de quinua (50.00 kX de amplificación)

El tamaño del gránulo de almidón está referido al diámetro promedio del mismo (Wani *et al.*, 2012). El tamaño promedio de los gránulos de almidón BH (1,495±0,20 μm), RHY (1,360±0,15 μm) y PK (1,075±0,04 μm) no mostró diferencias significativas entre los almidones BH y RHY, siendo el almidón PK de menor tamaño (Ver Tabla 22 y Anexo 10). Por el tamaño (<5 μm) los gránulos de almidón de las tres variedades se califican en la clase muy pequeño (Lindeboom *et al.*, 2004). Asimismo el tamaño de los gránulos de almidón de las variedades evaluadas fue menor a los almidones de las variedades Bolivianas (Steffolani *et al.*, 2013) y se encontró dentro del rango de almidones de quinua (0,08-3,5 μm) (Ando *et al.*, 2002; Lindeboom *et al.*, 2005; Steffolani *et al.*, 2013; Li y Zhu, 2017; Contreras-Jimenez *et al.*, 2019; Fuentes *et al.*, 2019).

En aplicaciones en alimentos, los almidones microgranulares y uniformes producen una sensación cremosa en la boca, lo cual es deseable en formulaciones alimenticias bajas en grasa o sin grasa (Lindeboom *et al.*, 2005). La Nutrasweet Company (Chicago, IL) recibió una patente en 1992 por hacer una crema de sustituto de carbohidratos a partir de almidón de quinua reticulado y mezclado con carboximetil celulosa que después del enfriamiento, como fluido blanco exhibió una textura cremosa (Singer *et al.*, 1992 citado por Lindeboom, 2005). Ahamed *et al.* (1996a) encontraron en las pastas de almidón de quinua una estabilidad inusual a la congelación y descongelación, debido a su resistencia a la retrogradación y tamaño; sugirieron aplicar almidón de quinua en productos alimenticios congelados y en productos alimenticios tipo emulsión, tales como aderezos para ensaladas.

Por otro lado el tamaño promedio del gránulo, distribución del tamaño del gránulo, junto con la relación amilosa/amilopectina y el contenido de minerales, son propiedades únicas que influyen en las características fisicoquímicas y en la funcionalidad de los almidones (Wani *et al.*, 2012; Gani *et al.*, 2013; Contreras-Jimenez *et al.*, 2019).

4.4 DIFRACTOGRAMAS DE RAYOS X Y CRISTALINIDAD DE ALMIDONES DE QUINUA

Los principales patrones de cristalinidad de los almidones nativos basados en la difracción de rayos X son del tipo A y B (Gani *et al.*, 2013), presentes en cereales y tubérculos respectivamente y del tipo C (Qian y Kuhn, 1999) correspondiente a leguminosas.

En la Figura 18 se presenta los difractogramas de rayos X de los almidones BH, RHY y PK. En todos los casos los difractogramas presentan un patrón tipo A, característico de los cereales. La cristalinidad del gránulo de almidón está asociada con el componente de amilopectina. Las cadenas de amilopectina más cortas se asocian con el tipo A, la cristalinidad del tipo B con las cadenas de amilopectina más largas, mientras que las cadenas de amilopectina de longitud intermedia muestran amilopectina de tipo C (Hizukuri, 1985).

Los almidones del tipo A tienen niveles más altos de cristalinidad (33-44 por ciento) y mayores temperaturas de gelatinización que los almidones del tipo B (15-28 por ciento) y por ende sus temperaturas de gelatinización son más bajas (Tian *et al.*, 1991).

Los almidones BH, RHY y PK presentaron niveles de cristalinidad relativa de 36,9; 37,5 y 39,2 por ciento respectivamente (Tabla 22). Se ha observado que la cristalinidad relativa en almidón de quinua varia de 21,5 a 43 por ciento (Watanabe *et al.*, 2007; Steffolani *et al.*, 1013; Ramos, 2014).

El almidón que presentó el mayor nivel de cristalinidad fue el PK, así como el pico más alto en la intensidad de la difracción; se atribuye a que dicho almidón presenta más regiones cristalinas en comparación con las otras variedades según Gani *et al.* (2013), coherente con el alto contenido de amilopectina y bajo nivel de amilosa en relación a los otros almidones (Ramos, 2014).

La cristalinidad polimórfica de los gránulos de almidón se ve afectado por el peso promedio de la longitud de la cadena (CL), del contenido de amilopectina asi como del contenido de amilosa (Jan *et al.*, 2017). Las moléculas de amilopectina de almidones de tipo A tienen cadenas más cortas (CL entre 23 y 29) (Hizukuri, 1985 y Fuentes *et al.*, 2019). Asimismo un menor contenido de amilosa aumenta el grado de cristalinidad del almidón (Atwell *et al.*, 1983), como lo observado en el almidón PK.

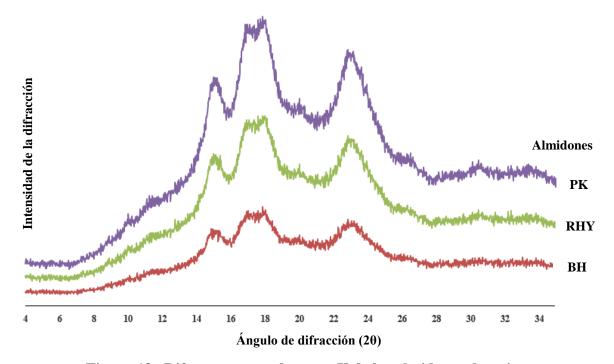


Figura 18. Difractogramas de rayos X de los almidones de quinua

4.5 PROPIEDADES TÉRMICAS DE LOS ALMIDONES MEDIANTE DSC

La determinación de las propiedades térmicas de los almidones de quinua se realizó en un calorímetro diferencial de barrido (DSC), que permitió el registro de las propiedades térmicas, producto de las transiciones conformacionales al modificar la temperatura (Brown, 1998; Biliaderis, 1993).

La Tabla 23 presenta las temperaturas de transición (T_o , T_p y T_c) y la entalpía de gelatinización (ΔH) de los almidones de quinua; las Figuras 19 a 21 representan los termogramas DSC y el Anexo 11 muestra el análisis estadístico de las propiedades térmicas.

Se observa que las temperaturas de inicio (59,89±0,20-62,45±0,20 °C), las temperaturas pico (66,29±0,17-68,84±0,27 °C) y temperaturas final (75,71±0,05-77,54±0,06 °C) de los almidones de las tres variedades de quinua se encontraron dentro de lo reportado por Lindeboon *et al.* (2005), Steffolani *et al.* (2013), Ramos (2014), Li *et al.* (2016), Wu *et al.* (2017), Jan *et al.* (2017), Li y Zhu (2017), Fuentes *et al.* (2019), Contreras-Jimenez *et al.* (2019) y Pycia *et al.* (2019).

Tabla 23. Propiedades térmicas de los almidones de quinua en DSC

	V	Propiedades			
Propiedades Térmicas	Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)	de Referencia d, e, f, g, h, i, j, k, l, m	
$T_{o}(^{\circ}C)$	62,18±0,16a	62,45±0,20a	59,89±0,20b	44,20-66,31	
T_p (°C)	$68,08\pm0,06b$	$68,84\pm0,27a$	$66,29\pm0,17c$	50,50-69,36	
T_c (°C)	$75,71\pm0,05b$	$77,54\pm0,06a$	$75,74\pm0,00b$	30,8-100,30	
Entalpía de					
gelatinización ΔH (J/g)	8,66±0,11c	9,79±0,15a	9,33±0,06b	4,33-20,96	

T_o (Temperatura de inicio on set), T_p (Temperatura pico), T_c (Temperatura final o conclusion). Valores seguidos por diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes (*p*<0,05) d (Contreras-Jiménez *et al.*, 2019), e (Steffolani *et al.*, 2013), f (Li *et al.*, 2016), g (Wu *et al.*, 2017), h (Li y Zhu, 2017), i (Lindeboom *et al.*, 2005), j (Jan *et al.*, 2017), k (Fuentes *et al.*, 2019), l (Picya *et al.*, 2019) y m (Ramos, 2014).

En cuanto a la temperatura de inicio de gelatinización (T_o), se observó que en el almidón PK ($T_o = 59,89\pm0,20~^{\circ}$ C) la temperatura on set fue menor que en BH ($T_o = 62,18\pm0,16~^{\circ}$ C) y RHY ($T_o = 62,45\pm0,20~^{\circ}$ C), los que asu vez no mostraron diferencia significativa. En la temperatura de gelatinización pico (T_p) hubo diferencia significativa entre los almidones; el almidón PK presentó la menor T_p ($66,29\pm0,17~^{\circ}$ C), tal como se observa en la Figura 22, asimismo el almidón PK tuvo el menor contenido de amilosa ($11,27\pm0,13~^{\circ}$ por ciento).

Lindeboon *et al.* (2005) señalan que la temperatura de gelatinización depende positivamente del contenido de amilosa, como lo observado en los almidones BH, RHY y PK para las temperaturas on set (T_o) y pico (T_p) (r=0.932, p<0.01 y r=0.844, p<0.01). Adicionalmente el almidón de quinua PK presentó el menor tamaño $(1.075\pm0.04 \,\mu\text{m})$. En general almidones con gránulos pequeños presentan temperaturas de gelatinización más bajas que los almidones de gránulos grandes (Lindeboom, 2005).

En relación a la temperatura final (T_c) el almidón RHY presentó el mayor nivel ($T_c = 77,54\pm0,06$ °C) en comparación con BH ($T_c = 75,71\pm0,05$ °C) y PK ($T_c = 75,74\pm0,00$ °C), quienes no presentaron diferencias significativas. Las temperaturas final de los almidones BH, RHY y PK fueron menores a la del almidón de amaranto ($T_c = 82,5$ °C) con menor contenido de amilosa (0,2 por ciento), Lorenz (1990) señala que los almidones con bajo contenido de amilosa tienen una mayor temperatura de gelatinización final (T_c). Las propiedades de gelatinización o térmicas están fuertemente relacionadas con el contenido de amilosa y son dependientes de las variedades de quinua (Lindeboom *et al.*, 2005), como lo observado en los almidones evaluados.

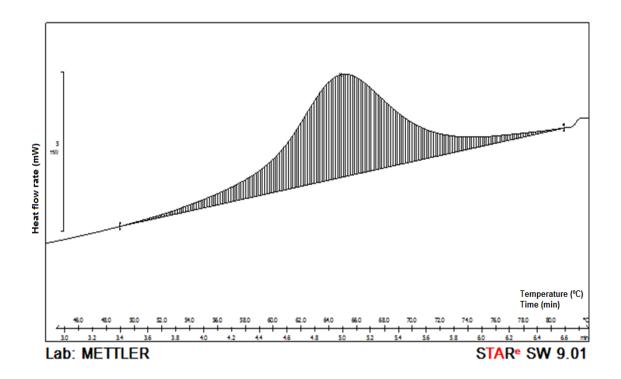


Figura 19. Termograma DSC del almidón quinua Blanca de Hualhuas (BH)

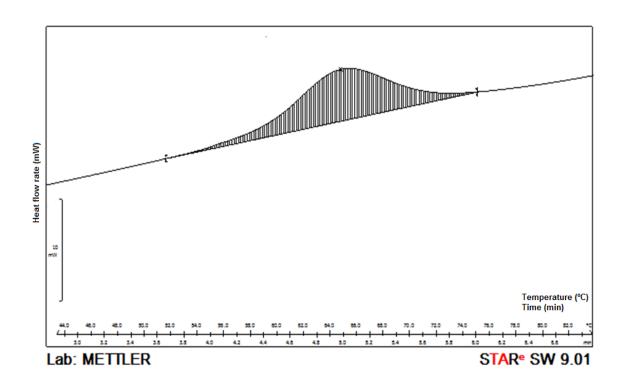


Figura 20. Termograma DSC del almidón de quinua Rosada de Huancayo (RHY)

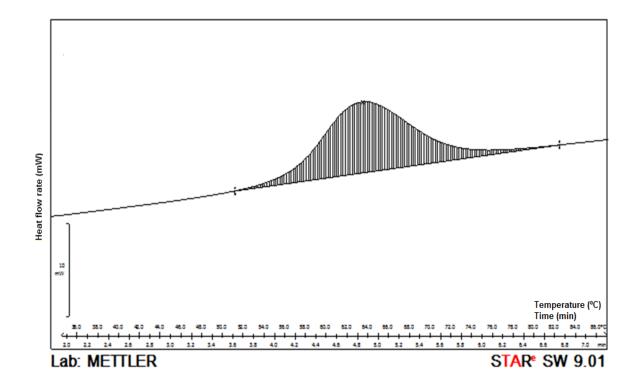


Figura 21. Termograma DSC del almidón de quinua Pasankalla (PK)

La gelatinización de almidón es un proceso endotérmico, la entalpía de gelatinización (ΔH) es positiva (Atwell *et al.*, 1988), da una medida global de cristalinidad y es un indicador de la pérdida del orden molecular dentro del gránulo (Tester y Morrison, 1990).

Las entalpías de gelatinización de los almidones BH, RHY y PK se encontraron en el rango 8,66±0,11 a 9,79±0,15 J/g, fueron similares a los reportados por Steffolani et al. (2013), fueron menores a 9,9-16,4 J/g (Li et al., 2016; Wu et al., 2017) y mayores a 4,34-5,10 J/g, reportado para almidones de quinua por Qian y Kuhn (1999), Lindeboom et al. (2005, Jan et al. (2017) y Picya et al. (2019). Hubo diferencia significativa entre las entalpias de gelatinización de los almidones BH, RHY y PK, siendo la entalpía del almidón BH la de menor nivel (8,66±0,11 J/g). Qian y Kuhn (1999) señalan que dicho comportamiento podría implicar configuraciones moleculares internas más compactas y de más alto grado de cristalinidad. El almidón BH presentó alta critalinidad (36,9 por ciento), la que se encontró en el rando 33-44 por ciento, reportado para almidones tipo A con alto nivel de cristalinidad (Tian et al., 1991). A su vez dicho almidón presentó el mayor contenido de amilosa (15,35±0,05 por ciento) que los almidones RHY y PK; Czuchajowska et al. (1998) señalan que valores de entalpía menores están relacionados con mayores niveles de amilosa, como lo observado en los almidones BH, RHY y PK con una fuerte correlación r = -1,000 y p<0,01, lo que sugiere, además un orden molecular bajo y cadenas de amilopectina de doble hélice más cortas.

4.6 PROPIEDADES DE PEGADO DE LOS ALMIDONES MEDIANTE RVA

La determinación de las propiedades de pegado de los almidones de quinua se realizó en un analizador rápido de viscosidad (RVA), que permitió el registro de las propiedades de pegado de los almidones, producto de la formación de la pasta durante el calentamiento y enfriamiento (Qian y Kuhn, 1999).

La Tabla 24 muestra la temperatura y tiempo de pegado o gel así como las viscosidades (máxima, de ruptura o breakdown, de restitución o setback, de caida y final). La Figura 23 representa los viscogramas RVA y en el Anexo 12 se muestra el análisis estadístico de las propiedades de pegado.

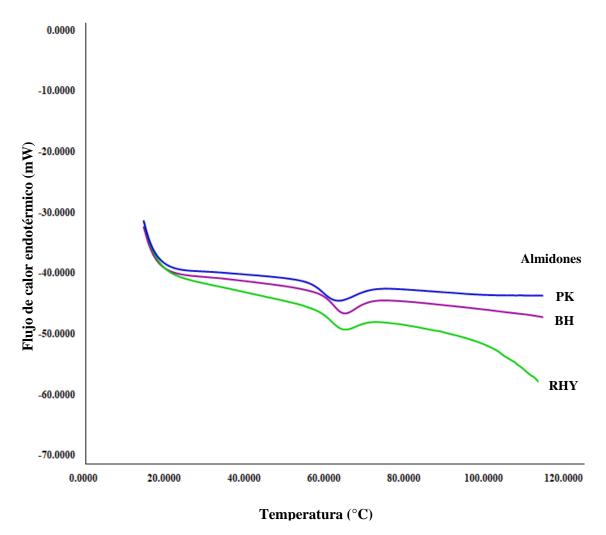


Figura 22. Termograma DSC de los almidones de quinua

Se observa que la temperatura de pegado, el tiempo máximo y las viscosidades (máxima, de ruptura o breakdown, de restitución o setback, de caída y final) se encuentran dentro de los niveles obtenidos en almidones de quinua por Contreras-Jiménez *et al.* (2019), Steffolani *et al.* (2013), Li *et al.* (2016), Wu *et al.* (2017), Li y Zhu (2017), Jan *et al.* (2017), Fuentes *et al.* (2019); Picya *et al.* (2019); sin embargo todas las propiedades de pegado fueron mayores a los reportados por Lindeboon *et al.* (2005).

Tabla 24: Propiedades de pegado de los almidones de quinua en RVA

D 111	Va	Variedades de quinua				
Propiedades - de Pegado	Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)	- Propiedades de Referencia		
P.Temp. (°C)	68,28±0,38a	68,68±0,08a	66,08±0,02b	51,3-91,0 (d, e, f, h, i, j, k, l)		
P.Time (min)	5,10±0,03b	5,34±0,07a	4,43±0,03c	5,1-17,5 (g, h, i).		
PV (cP)	4498±36,00c	4870±35,00b	5233±32,00a	43,2-9529 (d, e, f, g, h, i, j, k, l)		
BD (cP)	1035±79,00c	1242±67,50b	2142±92,00a	4,8-2616 (e, f, g, h, i, j, k, l)		
SB (cP)	1460±56,50b	1596±21,00a	1351±4,00c	15,6-2352 (e, f, g, h, i, j, l)		
TR (cP)	3463±115,00a	3629±102,50a	3091±60,00b	34,8-3693.6 (g, i, j)		
FV (cP)	4923±58,50b	5225±81,50a	4442±64,00c	50,4-4869 (e, g, i, j, k,l)		

1RVU = 12 cP

PV (Viscosidad máxima), P.Temp. (Temperatura de pegado), P.Time (Tiempo máximo o pico), BD (Viscosidad de rupura), SB (Viscosidad de restitución), TR (Viscosidad de caida) y FV (Viscosidad final). Valores seguidos por diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes (p<0,05) d (Contreras-Jiménez *et al.*, 2019), e (Steffolani *et al.*, 2013), f (Li *et al.*, 2016), g (Wu *et al.*, 2017), h (Li y Zhu, 2017), i (Lindeboom *et al.*, 2005), j (Jan *et al.*, 2017), k (Fuentes *et al.*, 2019) y l (Picya *et al.*, 2019).

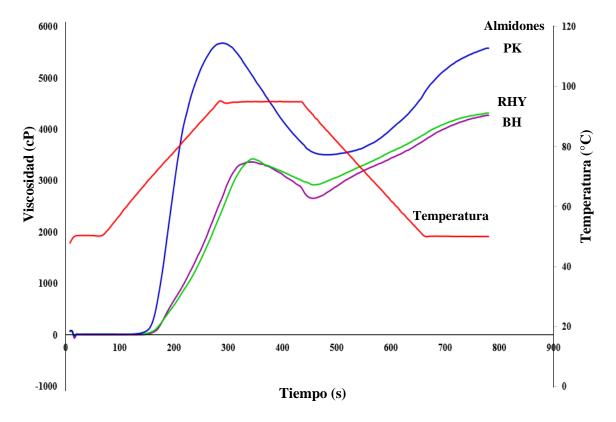


Figura 23: Viscograma RVA de los almidones de quinua

En cuanto a la temperatura de pegado o temperatura de inicio del incremento de viscosidad, los almidones BH y RHY con mayor nivel presentaron diferencias significativas con respecto al almidón PK. Una alta temperatura de pegado es un indicador de una buena estabilidad térmica de la pasta; característica de los almidones de quinua, importante en aplicaciones alimenticias donde el alimento deba soportar altas temperaturas por largos periodos de tiempo sin pérdida de viscosidad (Ramos, 2014).

La propiedad del tiempo máximo o tiempo en el cual ocurre la viscosidad máxima mostró diferencias significativas entre los almidones de las tres variedades de quinua. El almidón PK con $11,28\pm0,06$ por ciento de amilosa presentó un menor tiempo máximo $(4,43\pm0,03)$ min), en relación a $5,10\pm0,03$ min correspondiente al almidón BH con mayor contenido de amilosa $(15,35\pm0,05)$ por ciento). Lindeboom *et al.* (2005) señalan que el tiempo máximo presenta una correlación positiva con el contenido de amilosa, como lo observado en los almidones BH, RHY y PK (r = 0,877, p < 0,01).

En relación a todas las propiedades de viscosidad, los almidones BH, RHY y PK presentaron diferencias significativas, excepto la viscosidad de caída (TR).

La viscosidad máxima (PV) está relacionada con la capacidad de unión y retención del agua o el grado de hinchamiento de los gránulos (Wani *et al.*, 2012; Hernández-Medina *et al.*, 2008). La viscosidad máxima (PV) del almidón PK (5233±32,00 cP), con menor contenido de amilosa fue mayor que en los almidones BH y RHY, con mayor contenido de amilosa. Según Lindeboom *et al.* (2005) dicha propiedad presentan una correlación negativa con respecto al contenido de amilosa, como lo observado en los almidones de las variedades BH, RHY y PK (r = -0,954, *p*<0,01, en el Anexo 25).

Asimismo el almidón PK presentó el mayor nivel de viscosidad máxima PV a la menor temperatura de pegado (P.Temp. = 66,08±0,02 °C). Wang *et al.* (2015) señalan que el almidón que alcanza mayor viscosidad máxima (PV) a una menor temperatura de pegado (P.Temp.), sugiere que la quinua es fácil de cocinar y puede proporcionar una textura y percepción sensorial única del alimento.

Por otro lado el almidón PK desarrolló la mayor viscosidad máxima a un menor tiempo máximo (P.Time = $4,43\pm0,03$ min), propiedad que presentó correlación positiva con respecto al contenido de amilosa (r = 0,877, p<0,01), de acuerdo a lo reportado por Lindeboom *et al.* (2005).

A su vez el almidón de quinua PK con el mayor nivel de viscosidad PV presentó la mayor capacidad de retención de agua con respecto a BH y RHY (Tabla 25). Wani *et al.* (2012) y Hernández-Medina *et al.* (2008) señalan que la viscosidad PV está relacionada con la capacidad de retención de agua o el grado de hinchamiento de los gránulos de almidón.

En cuanto a la viscosidad de ruptura o breakdown (BD), Li *et al.* (2016) señalan que dicha viscosidad indica la resistencia de la pasta al calentamiento y al esfuerzo de corte. El almidón PK presentó el mayor valor de viscosidad BD (2142±92,00 cP) que los almidones BH (1035±79.00 cP) y RHY (1242±67.50 cP), lo que sugiere una menor capacidad para resistir al calentamiento y al esfuerzo de corte. El almidón BH en comparación con los almidones RHY y PK presentó menor nivel de BD y PV, condición que le hace más resistente al hinchamiento y a la desintegración durante el proceso de pegado (Wang *et al.*, 2015) y sugiere un mayor grado de estabilidad durante la cocción (Adebowale y Lawal, 2003). Por otro lado la viscosidad BD para todos los almidones BH, RHY y PK mostró una correlación negativa con el contenido de amilosa (r = -0,954, *p*<0,01), acorde con lo reportado por Lindeboom *et* al. (2005).

En relación a la viscosidad de caída o trough (TR), los almidones BH y RHY no mostraron diferencias significativas y estos presentaron niveles mayores con respecto al almidón PK (3091±60,00 cP). A su vez el ratio TR con respecto a PV en el almidón PK fue menor (0,6) que en los almidones BH y RHY (con un ratio similar a 0,8), por lo que dicho almidón presenta una menor cohesión antes del inicio de la retrogradación (Batey, 2007).

La viscosidad SB muestra la tendencia de la pasta para retrogradar y para que la amilosa vuelva a asociarse (Li *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2015). La viscosidad de restitución o setback (SB) del almidón PK (1351±4,00 cP) fue menor que en los almidones BH (1460 ± 56.50 cP) y RHY (1596 ± 21.00 cP) con mayor contenido de amilosa, es decir presentó una correlación positiva. Grant *et al.* (2001) señalan que la viscosidad setback refleja el grado de retrogradación de las pastas de almidón y se espera que presenten una correlación positiva con el contenido de amilosa, como lo observado en los almidones BH, RHY y PK (r= 0.641, *p*<0,01). Asimismo el almidón PK, con menor viscosidad SB, presentó un menor nivel de sinéresis o menor nivel de agua liberada a las 144 h (32,13±1,87% en la Tabla 25). Gani *et al.* (2013) señalan que cuanto mayor es la viscosidad SB tiene lugar una mayor sinéresis y esto indica a su vez una mayor tendencia a la retrogradación.

Por otro lado los almidones con altos niveles de viscosidad máxima (PV) y baja viscosidad setback (SB), como el almidón PK en comparación con los almidones BH y RHY, podrían

usarse en productos alimenticios que requieran mantener su consistencia, sin endurecerse o gelificarse después del enfriamiento, como los postres cremosos instantáneos (Steffolani *et al.*, 2013).

En cuanto a la viscosidad final no hubo diferencia significativa entre los almidones BH, RHY y PK. En el almidón RHY la viscosidad final (FV) se incrementó cuando la pasta fue enfriada, por lo que dicho almidón no es estable a los procesos de enfriamiento, hecho que debe tomarse en cuenta si dicho almidón será incorporado en productos que requieran enfriamiento durante su preparación (Hernández-Medina *et al.*, 2008).

4.7 PROPIEDADES DE LOS GELES DE ALMIDÓN DE QUINUA

4.7.1 Capacidad de retención de agua

Los resultados de la determinación de la capacidad de retención de agua de los almidones de las quinuas BH, RHY y PK se presentan en la Tabla 25 y en el Anexo 13 se muestra el análisis estadístico de dichos resultados.

Tabla 25: Propiedades de los geles de almidón de quinua

		Va	riedades de quinua	
Pı	ropiedades	Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)
reter	npacidad de nción de agua nua/g almidón)	1,13±0,00b	1,05±0,01c	1,21±0,01a
Firme	za de geles (gf)	15,42±0,49b	8,50±0,62c	20,49±0,64a
is aje)	Agua liberada a 24 h	48,83±1,07b	56,22±0,13a	31,21±1,12c
Sinéresis (porcentaje)	Agua liberada a 72 h	48,53±0,05b	57,49±0,72a	35,46±0,04c
3 d) 	Agua liberada a 144 h	51,81±0,05b	56,63±0,45a	32,13±1,87c

Valores seguidos por diferentes letras en la misma fila son significativamente diferentes (p<0,05)

La capacidad de retención de agua de los almidones BH, RHY y PK presentó diferencias significativas. El almidón PK mostró la mayor retención de agua (1.21±0.01 g agua/g almidón), para un menor contenido de amilosa que los almidones BH y RHY; dicho nivel en porcentaje fue cercano al obtenido por Lorenz (1990) (118,5 por ciento). Iturriaga *et al*. (2004) señalan que la capacidad de retención decrece cuando se incrementa el contenido de

amilosa, por lo que se correlaciona negativamente con el contenido de amilosa (r = -0.725, p<0.01), como lo observado en los almidones BH, RHY y PK.

La capacidad de retención de agua es una medición a temperatura ambiente y no indica el comportamiento del almidón cuando se calienta. La baja retención de agua se atribuye a la estrecha asociación de los polímeros de almidón en el gránulo nativo (Lorenz, 1990), y al grado de disponibilidad de los sitios de unión del agua en los almidones (Mishra y Rai, 2006).

4.7.2 Firmeza de los geles de almidón

En la Tabla 25 se muestran los resultados de la determinación de la firmeza de los almidones de las quinuas BH, RHY y PK y en el Anexo 13 se presenta el análisis estadístico de los resultados.

La firmeza de los almidones BH, RHY y PK presentó diferencias significativas (p<0,05). El almidón PK, con mayor contenido de amilopectina, mostró mayor firmeza (20,49±0.64 gf) que los almidones BH y RHY. Asimismo dicho almidón presentó el menor tamaño de gránulo (1.075±0.04 μ m).

Los principales factores que contribuyen a la fuerza del gel son la extensión de la red de gel de amilosa y la deformabilidad de los gránulos hinchados (Luyten *et al.*, 1992). Los gránulos de almidón que presentan mayor poder de hinchamiento producen geles que son más deformables (más elásticos) que los geles obtenidos de gránulos con menor poder de hinchamiento. El poder de hinchamiento de los almidones es una propiedad de su contenido de amilopectina, siendo la amilosa un diluyente e inhibidor del hinchamiento (Cheng *et al.*, 1996). Por otro lado los gránulos con menor diámetro producen geles con mayor firmeza, atribuida a la mayor superficie específica de los granos (Ramos, 2014).

La firmeza de los almidones BH, RHY y PK (con mayor contenido de amilosa) fue ligeramente menor a los reportados por Steffolani *et al.* (2013), sin embargo podrían ser utilizados en diversos productos alimenticios para obtener una consistencia y una firmeza deseada.

4.7.3 Sinéresis de los geles de almidón

Los resultados de la determinación de la sinéresis, en el periodo de almacenamiento, de los geles de almidón de las quinuas BH, RHY y PK se presentan en la Tabla 25 y en el Anexo 13 se muestra el análisis estadístico de los resultados.

La sinéresis de los almidones BH, RHY y PK en el tiempo de almacenamiento presentó diferencias significativas. El almidón PK, conforme pasaron las horas de almacenamiento refrigerado, presentó menor sinéresis o menor contenido de agua liberada, por lo que es más estable a la congelación y descongelación (posee menor grado de retrogradación). Asimismo Gani *et al.* (2013) señalan que cuanto menor es la viscosidad SB tiene lugar una menor sinéresis y esto indica a su vez una menor tendencia a la retrogradación, como lo observado en el almidón PK.

Hernández-Medina *et al.* (2008) señalan que los almidones de baja sinéresis, pueden ser utilizados en productos como rellenos de pasteles, alimentos infantiles y sopas. Asimismo los almidones que producen mayor sinéresis pueden ser utilizados en aquellos alimentos que requieren ser almacenados en refrigeración y necesitan cierta exudación de humedad para proporcionar una apariencia fresca, como los flanes o salsas.

Asimismo almidones con tamaño granular pequeño confieren una textura suave, alta retención de agua y baja sinéresis, como lo observado en el almidón PK, lo que sugiere la posibilidad de utilizarlo como sustituto de la grasa (Qian y Kuhn, 1999).

4.8 ENTRENAMIENTO DE JUECES SENSORIALES EN SABOR AMARGO EN QUINUA

A fin de evaluar sensorialmente el sabor amargo en los granos de quinua de las variedades en estudio, se realizó el entrenamiento del panel de jueces seleccionados, a partir de la determinación del umbral de identificación, ejecución de pruebas discriminativas, entrenamiento en la escala de medición, entrenamiento final y evaluación del desempeño.

4.8.1 Resultados de la determinación del umbral de identificación

Los resultados de la determinación del umbral de identificación, como prueba inicial del entrenamiento de jueces, para las sensaciones gustativas amargo y astringente, en soluciones de identificación así como en granos de quinua, se presentan en la Tabla 26 y Figura 24. Dichos umbrales se expresan cómo cantidad mínima de estímulo que cada juez fue capaz de identificar, en los diferentes casos.

Tabla 26: Umbral de identificación de los jueces sensoriales

	S	Granos de quinua			
Jueces sensoriales	Cafeína monoh.	Ácido tánico	Saponina química	Polvo de saponina de quinua escarificada	(porcen- taje de saponina)
Juez 1	0,01	0,005	0,005	0,05	0,00
Juez 2	0,01	0,02	0,005	0,05	0,00
Juez 3	0,015	0,01	0,01	0,05	0,00
Juez 4	0,015	0,03	0,01	0,05	0,00
Juez 5	0,01	0,005	0,01	0,05	0,00
Juez 6	0,02	0,02	0,01	0,05	0,00
Juez 7	0,02	0,03	0,01	0,05	0,00

El menor umbral de identificación a la cafeína monohidratada (0,01 por ciento) lo presentaron 3 jueces (Juez 1, Juez 2 y Juez 5), por lo que su sensibilidad fue mejor, seguido de los Jueces 3 y 4 (0,015 por ciento) y los Jueces 6 y 7 (0,02 por ciento). En relación al umbral del ácido tánico (sensación astringente), el mejor nivel lo tuvieron los Jueces 1 y 5 (0,005 por ciento) y el mayor nivel los Jueces 4 y 7 (0,03 por ciento). En el caso del umbral de identificación de la saponina química, el nivel más bajo lo presentaron los Jueces 1 y 2 (0,005 por ciento), seguido de los demás jueces con 0,01 por ciento. El total de panelistas presentaron un umbral de identificación similar al polvo de saponina de quinua escarificada y a los granos de quinua, en ambos casos en el nivel mínimo de identificación.

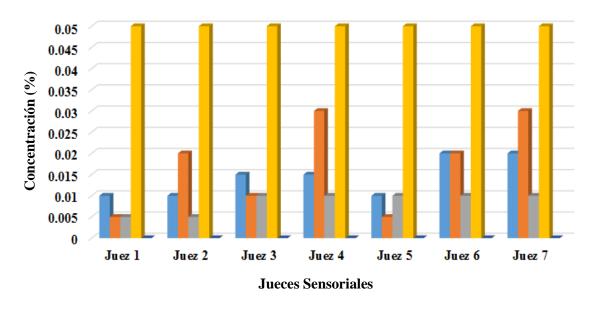


Figura 24: Umbral de identificación de los jueces sensoriales

La diferencia en los umbrales de identificación a diferentes sustancias, tiene relación con el curso temporal de la respuesta evocada por cada sabor, el mismo que es neural y perceptivamente distinto para cada individuo (Fisher y Scott, 2000); asimismo las diferencias perceptuales surgen debido a la variación genética, combinada con la experiencia, sexo y madurez de los individuos (Reed *et al.*, 2006).

4.8.2 Resultados de la prueba de emparejamiento

Los resultados de la prueba de emparejamiento mostraron la capacidad de los jueces de emparejar muestras del mismo tipo de sustancias sápidas (Anexo 14). En el Tabla 27 se observa un porcentaje de acierto del 100 por ciento en los jueces; resultado del entrenamiento requerido cuando se desea determinar la capacidad de un candidato para detectar diferencias entre productos similares (Meilgaard *et al.*, 2015).

4.8.3 Resultados de la prueba de comparación por parejas

La capacidad de discriminar entre pares de muestras de un mismo tipo de sustancias sápidas se observó en los resultados de la prueba unilateral de comparación por parejas (ver Anexo 15). En la Tabla 27 se presenta el nivel de acierto alcanzado por los jueces sensoriales en la prueba para los niveles de baja, media y alta concentración de las sustancias sápidas empleadas y provenientes de las dos repeticiones ejecutadas. En todos los casos se observa un nivel del 100 por ciento de acierto. Kemp *et al.* (2012) señalan que este tipo de entrenamiento permite a los jueces determinar diferencias (o similitudes) entre dos muestras o más.

4.8.4 Resultados de la prueba triangular

En el Anexo 16 se muestra los resultados de las pruebas triangulares. La Tabla 27 presenta el nivel alcanzado por los jueces en la evaluación de baja, media y alta concentración de las sustancias sápidas y de los granos de quinua empleados, provenientes de dos repeticiones. En todos los casos se observa un nivel del 100 por ciento de acierto. Pedrero y Pangborn (1996) señalan que los resultados de acierto logrados en este tipo de prueba permiten a los jueces señalar las diferencias mínimas entre muestras (sensibilidad) y que responden en forma constante en sus juicios (reproducibilidad).

4.8.5 Resultados de la prueba de ordenamiento

Los resultados de la prueba de ordenamiento se presentan en el Anexo 17. En la Tabla 27 se señala el nivel alcanzado por los jueces en su capacidad de discriminar y ordenar las muestras de menor a mayor intensidad en el sabor amargo en soluciones de polvo de saponina de quinua escarificada y de los granos de quinua con diferentes niveles de saponina. En todos los casos se observa un nivel del 100 por ciento de acierto.

Stone *et al.* (2012) señalan que el entrenamiento empleando pruebas discriminativas, permite descartar el hecho de que si los jueces no pueden percibir una diferencia, uno no puede estar seguro de una falta de diferencia entre los productos, por lo que se requiere de un número de juicios repetidos acertados, que dependen de la habilidad de los individuos, logrado a través del rendimiento aceptable, como lo observado en los jueces con un nivel de acierto del 100 por ciento en las pruebas de emparejamiento, comparación por parejas, triangular y ordenamiento.

Tabla 27: Resultados del entrenamiento en pruebas discriminativas (porcentaje de aciertos)

	Pruebas Discriminativas (porcentaje de acierto) Empareja- Comparación miento por parejas Triangular Ordenamiento					
Jueces sensoriales	Gustos básicos Gusto amargo	Saponina química Cafeína monohidratada Ácido tánico	Polvo de saponina de quinua escarificada Granos de quinua	Polvo de saponina de quinua escarificada Granos de quinua		
Juez 1	100	100	100	100		
Juez 2	100	100	100	100		
Juez 3	100	100	100	100		
Juez 4	100	100	100	100		
Juez 5	100	100	100	100		
Juez 6	100	100	100	100		
Juez 7	100	100	100	100		

4.8.6 Resultados del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada

Luego de realizada la sesión de capacitación sobre la escala lineal no estructurada, en el entrenamiento, los jueces, empleando su sentido de la vista y su memoria sensorial, cuantificaron la porción del área sombreada de las figuras geométricas, colocando una marca

en la escala lineal de 10 cm. El valor nominal de referencia para cada figura geométrica se obtuvo por cálculo matemático del área sombreada y su transformación a valor numérico en una escala de 0,0 a 10,0 cm.

Los resultados de las mediciones generadas por los jueces (en cm) se muestran en el Anexo 18. En la Tabla 28 se presenta el promedio de las mediciones y la desviación estándar con respecto al valor nominal, ya que se buscó la aproximación al valor nominal, así como una respuesta grupal similar para el área sombreada en cada figura geométrica.

Tabla 28: Resultados grupales del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada empleando figuras geométricas (I, II y III)

	Prueba		M	edicione	s en la e	escala lii	neal no	estructu	rada (cı	n.)	
	Figuras geométricas	F1	F2	F3	F4	F5	F 6	F7	F8	F9	F10
Con figuras de	Valor nominal (cm)	5,0	2,5	0,0	2,1	5,7	6,7	3,4	2,3	9,0	6,6
áreas	Promedio mediciones (cm)	5,0	2,5	0,0	2,0	8,1	5,0	3,0	2,5	9,1	8,1
sombreadas I	Desv. est. del valor nominal	0,0	0,0	0,0	0,1	1,7	1,2	0,3	0,1	0,1	1,1
	Desv. est. de medición grupal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4
Con figuras de	Figuras geométricas	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
	Valor nominal (cm)	5,0	2,5	8,7	1,5	3,7	4,5	1,9	1,4	9,1	10,0
áreas	Promedio mediciones (cm)	5,0	2,5	8,5	0,9	3,5	4,9	2,2	1,3	9,2	10,0
sombreadas II	Desv. est. del valor nominal	0,0	0,0	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,0
	Desv. est. de medición grupal	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0
Con figuras de áreas sombreadas III	Figuras geométricas	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
	Valor nominal (cm)	5,0	2,0	8,7	0,0	2,5	1,1	2,7	6,5	7,9	10,0
	Promedio mediciones (cm)	5,0	2,0	9,5	0,0	1,5	1,0	2,7	7,0	9,0	10,0
	Desv. est. del valor nominal	0,0	0,0	0,6	0,0	0,7	0,1	0,0	0,4	0,7	0,0
	Desv. est. de medición grupal	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0

El diseño estadístico seleccionado para la evaluación de los resultados fue el Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), que considera como fuentes de variabilidad al factor tratamientos (figuras sombreadas), al factor bloque (jueces), incorporado de manera explícita como un medio para estudiar de forma adecuada y eficaz al factor interés (como un solo factor), además del error experimental (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

Según Montgomery (2010) la validez de los resultados obtenidos en el análisis de varianza (ANOVA) queda supeditado al cumplimiento de los supuestos del modelo DBCA, como la *normalidad* de la respuesta (medidas, en cm; de la escala lineal no estructurada), la que debe cumplirse para que el estadístico F=CME/CMD y los valores "p" reportados sean válidos.

Siguiendo lo establecido por Gutiérrez y de la Vara (2008), se comprobó el supuesto de *normalidad* de Anderson-Darling (AD), aplicando el programa estadístico Minitab 18 para los resultados de las mediciones empleando figuras geométricas (I, II y III) (Ver Anexo 18).

La Tabla 29 consolida los resultados de la evaluación del supuesto de *normalidad*, observándose en todos los casos que no se cumplió a un nivel de significancia [p<0,005] < $[\alpha=0,05]$, impactando sobre el verdadero nivel de significancia de la prueba de hipótesis del ANOVA, afectando así la calidad de las conclusiones a obtener; por lo que a fin de comparar la respuesta de los bloques o jueces, asociado a su entrenamiento, se empleó el cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall, siguiendo lo establecido por Siegel y Castellan (1998), para un $\alpha=0,05$.

Tabla 29: Resultados de la evaluación del supuesto de normalidad

	Figuras Geométricas I	Figuras Geométricas II	Figuras Geométricas III
Estadístico AD	2,841	3,617	2,660
p-value	< 0,005	< 0,005	< 0,005

En la Tabla 30 se muestra los coeficientes de concordancia de Kendall (W), entre las respuestas de los jueces o bloques, en las mediciones de las pruebas con figuras geométricas I, II y III, obtenidos con el programa estadístico IBM SPSS Statistics Versión 24.

Tabla 30: Resultados de la homogeneidad de jueces a través del coeficiente de concordancia de Kendall

N° de jueces	Coeficiente de Concordancia de Kendall (W) para $\alpha = 0.05$					
sensoriales	Prueba con Figuras Geométricas I	Prueba con Figuras Geométricas II	Prueba con Figuras Geométricas III			
07	0,991	0,994	1,000			

El coeficiente W expresa el grado de asociación entre un conjunto de rangos, por lo que muestra el grado de acuerdo entre varios jueces, su valor oscila entre de 0 a 1, donde el valor 0 muestra un desacuerdo total y el valor 1 significa una concordancia de acuerdos total (Siegel y Castellan, 1998 y Berlanga y Rubio, 2012). Se observa que, en todas las pruebas, el coeficiente de concordancia de Kendall (W) fue cercano o igual a uno (1), mostrando alto grado de concordancia u homogeneidad entre la respuesta de los jueces sensoriales.

En cuanto a la exactitud de las mediciones en relación al valor nominal de las figuras, se estableció como criterio que la amplitud del promedio de la medición no deba superar los ±0,5 cm, a fin de que la medición quede dentro de la amplitud de la división del intervalo (1 cm). Como se observa en la Tabla 28, en general hubo exactitud en las pruebas con figuras geométricas, excepto en los casos en que las figuras fueron muy complejas como F5, F6 y F10 del grupo I y F3, F5 y F9 del grupo III, sin embargo la desviación estándar de las mediciones en ningún caso superó la amplitud establecida, mostrando homogeneidad grupal de los jueces en entrenamiento (Meilgaard *et al.*, 2015).

4.8.7 Resultados del entrenamiento final y evaluación del desempeño

a. Resultados de la prueba triangular y prueba de ordenamiento

En el Anexo 19 se muestra los resultados de las pruebas triangulares y las pruebas de ordenamiento empleando las muestras de referencia, tanto en el entrenamiento final como en la evaluación del desempeño. En ambos grupos de pruebas; el nivel alcanzado por los jueces en su capacidad de discriminar entre dos muestras diferentes y en su capacidad de discriminar la intensidad del sabor amargo en ocho muestras de referencia, se observó un nivel del 100 por ciento de acierto, resultado que se repite tanto en el entrenamiento final como en la evaluación del desempeño.

b. Resultados del uso de la escala con muestras de referencia de quinua en el entrenamiento final

Los resultados de las mediciones generadas por los jueces (en cm) al evaluar la intensidad del sabor amargo en muestras de referencia de quinua, con diferentes contenidos de saponina, se muestran en el Anexo 20. En la Tabla 31 se presenta el valor nominal, el promedio de las mediciones y las desviaciones estándar con respecto al valor nominal y de la medición grupal. En esta prueba se buscó la aproximación al valor nominal así como una respuesta grupal similar.

Tabla 31: Resultados del entrenamiento en la intensidad del sabor amargo en muestras de referencia de granos de quinua

	Intensidad del sabor amargo (cm en escala lineal no estructurada)							
Muestras de referencia	12L	7 L	5 L	4L	3L	2 L	1L	SL
Valor nominal	0,0	1,2	1,5	1,7	1,9	3,8	6,2	10,0
Promedio	0,0	1,1	1,4	1,7	1,9	3,7	6,1	10,0
Desv. est. del valor nominal	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0
Desv. est. de medición grupal	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0

Los resultados generados por el panel de jueces se analizaron empleando el Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA). Siguiendo Gutiérrez y de la Vara (2008) al comprobar el supuesto de *normalidad* del modelo DBCA (ver Anexo 20 y Tabla 32) se observa que no se cumplió con la normalidad ([p<0,005] < [α = 0,05]), por lo que a fin de comparar la respuesta de los bloques o jueces, asociado a su entrenamiento, se empleó el cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall (W) (Siegel y Castellan, 1998) (Tabla 33).

Tabla 32: Evaluación del supuesto de normalidad en muestras de referencia de quinua

	Intensidad del sabor amargo
Estadístico AD	4,263
p-value	< 0,005

Tabla 33: Coeficiente de concordancia de Kendall en la evaluación de muestras de referencia

N° de jueces	Coeficiente de Concordancia de Kendall (W)) para $\alpha = 0.05$
sensoriales	Intensidad del sabor amargo
07	0,999

El coeficiente de concordancia W fue cercano a 1, muestra concordancia y homogeneidad en la respuesta de los jueces, necesario en los estudios interjuicios o de confiabilidad interprueba como lo establecen Siegel y Castellan (1998), por lo tanto los jueces sensoriales se encuentran entrenados en la evaluación del sabor amargo en quinua.

Asimismo en cuanto a la exactitud de las mediciones en relación al valor nominal de las muestras, se estableció como criterio que la amplitud del promedio de la medición no deba superar los $\pm 0,1$ cm (desviación estándar $\pm 0,1$). Como se observa en el Tabla 33, hubo exactitud en la evaluación de todas las muestras de referencia, la desviación estándar, tanto con respecto al valor nominal, así como entre los jueces, en ninguno de los casos fue superior a 0,1; mostrando que hubo exactitud en las evaluaciones, necesario en un panel de jueces entrenados (Kemp *et al.*, 2012).

c. Resultados del uso de la escala con muestras de referencia de quinua en la evaluación del desempeño

En la etapa de evaluación del desempeño, los jueces entrenados calificaron la intensidad del sabor amargo de las muestras de referencia, realizando cuatro repeticiones, a fin de demostrar que las evaluaciones se han realizado de manera consistente y confiable (Ver Anexo 21).

En la Tabla 34 se presenta el promedio de los resultados de la intensidad del sabor amargo (mediciones en cm), así como el valor nominal y la desviación estándar con respecto a dicho valor.

Tabla 34: Resultados del entrenamiento en el uso de la escala lineal no estructurada con muestras de referencia de granos de quinua

	MUESTRAS DE REFERENCIA DE QUINUA							
	12L 7L 5L 4L 3L 2L 1L SI						SL	
Intensidad promedio (cm) de 07 jueces entrenados	0,0	1,1	1,5	1,7	1,9	3,7	6,1	10,0
Valor nominal (VN) (cm)	0,0	1,2	1,5	1,7	1,9	3,8	6,2	10,0
Desviación estándar del VN	0,0	0,05	0,02	0,01	0,0	0,07	0,07	0,0

Al aplicar el Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), se comprobó el supuesto de *normalidad* (ver Anexo 21 y Tabla 35). Se observa que no se cumplió con la normalidad ([p<0,005] < [α = 0,05]), por lo que, se empleó el cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall (W) (Siegel y Castellan, 1998) (Tabla 35), cuyo valor de uno muestra la homogenidad de la respuesta de los jueces entrenados. En relación a la exactitud de las mediciones con respecto al valor nominal, en ninguno de los casos la desviación estándar fue diferente a ±0,1; por lo que el panel de jueces sensoriales entrenados, responden de forma precisa con respecto al valor nominal establecido, demostrando que sigue entrenado, tal como lo refiere Kemp *et al.* (2012).

Tabla 35: Supuesto de normalidad y coeficiente de Kendall (W) en la evaluación de muestras de referencia de quinua

	Intensidad del sabor amargo
Estadístico AD	4,414
p-value	< 0,005
Coeficiente W	1,000

4.9 EVALUACIÓN DEL SABOR AMARGO DE LAS VARIEDADES DE QUINUA

Los resultados de la evaluación de la intensidad del sabor amargo de las variedades de quinua: Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY) y Pasankalla (PK), generado por el panel de jueces sensoriales entrenados se presenta en el Anexo 22.

La Tabla 36 muestra el promedio de la intensidad del sabor amargo en la escala lineal no estructurada, el valor nominal generado con muestras control con el panel entrenado, la desviación estándar con respecto a dicho valor, el nivel de la escala de categorías y el porcentaje de saponinas de cada muestra.

Tabla 36: Intensidad del sabor amargo y contenido de saponinas de las muestras de quinua

	Quinua				
Parámetros	Blanca de Rosada de Huahuas (BH) Huancayo (RH		Pasankalla (PK)		
Promedio (cm)	1,74	0,79	0,0		
Valor nominal (cm)	1,8	0,8	0,0		
Desviación estándar del VN	0,04	0,01	0,0		
Escala de categorías	Débil	Muy débil	Ausente		
Saponina (%)	0,38	0,09	0,0		

Se observa que la quinua variedad Pasankalla (con 0,01 por ciento de saponina), presentó en la escala lineal un nivel de intensidad de sabor amargo de cero cm, correspondiente a ausente en la escala de categorías, por lo que dicha quinua en el sabor se considera "dulce" (Bhargava *et al.*, 2006).

La quinua variedad Rosada de Huancayo con 0,09 por ciento de saponina, presentó en la escala lineal un nivel de intensidad de sabor amargo de 0,8 cm, correspondiente a "muy débil" en la escala de categorías. Koziol (1991) en la evaluación de la relación del contenido de saponinas en porcentaje y la evaluación sensorial del sabor con un panel de jueces entrenados, obtuvo que el punto de inflexión entre una quinua "dulce" y "amarga" ocurre entre 0,06 por ciento y 0,16 por ciento de contenido de saponina, por lo que la quinua Rosada de Huancayo presenta un sabor amargo muy débil.

En cuanto a la quinua variedad Blanca de Hualhuas con un contenido de 0,38 por ciento de saponinas, presentó en la escala lineal una intensidad de sabor amargo de 1,8 cm, correspondiente a "débil" en la escala de categorías. Koziol (1992) y Gómez-Caravaca *et al.* (2014) señalan que las quinuas que presentan un contenido de saponinas > 0.11 por ciento se consideran en el sabor como "amargas", como la variedad Blanca de Hualhuas.

Por otro lado, a fin de evaluar la homogeneidad del panel entrenado en la evaluación de las muestras en estudio, se obtuvo la comprobación del supuesto de normalidad del diseño DBCA (Anexo 22 y Tabla 37), observándose que no se cumplió con la normalidad ([p<0,005] < [α = 0,05]), por lo que a fin de comprobar que el panel generó una respuesta grupal similar se obtuvo el coeficiente de concordancia de Kendall (W), cuyo valor de 1,000 mostró homogeneidad y consistencia entre los resultados de los jueces entrenados (Siegel y Castellan, 1998 y Fermín *et al.*, 2009).

Tabla 37: Supuesto de normalidad y coeficiente de concordancia de Kendall (W) en la evaluación de variedades de quinua

	Intensidad del sabor amargo
Estadístico AD	1,480
p-value	< 0,005
Coeficiente W	1,000

En forma complementaria se buscó comprobar la precisión de la medición a través de la aproximación del promedio de los jueces entrenados al valor nominal mediante la prueba de signos de la mediana (Siegel y Castellan, 1998), aplicando el programa estadístico IBM SPSS Statistics Versión 24 (α = 0,05) (Ver Anexo 22).

En la Tabla 38 se presenta la conclusión de la prueba de signos de la mediana, se observa que en las tres evaluaciones de quinua la mediana fue igual al valor nominal (Conclusión Ho), por lo que el panel de jueces sensoriales entrenados, respondió de forma precisa a la intensidad del sabor amargo de las variedades en estudio. Dicho panel puede ser empleado en evaluar variedades de quinua con diferentes niveles de saponina, y para monitorear la eficacia de la eliminación de saponinas como parte de los procesos de control de calidad en la cadena productiva de la quinua.

Tabla 38: Resultados de la prueba de signos de la mediana en las variedades de quinua

Hipótesis

Ho: La Mediana poblacional de la intensidad del sabor amargo es igual al valor nominal Ha: La mediana es menor (mayor ó distinta) del valor nominal.

 $\alpha = 0.05$

Muestra de referencia	Valor Nominal	Mediana	p-value	Conclusión
Blanca de Hualhuas	1,8	1,75	0,031	Но
Rosada de Huancayo	0,8	0,8	1,000	Но
Pasankalla	0,0	0,8	1,000	Но

4.10 EVALUACIÓN DEL ESTADO DEL CATADOR DE PROP (6-n-PROPILTIOURACILO)

La evaluación de catadores PROP permite clasificar personas, que perciben compuestos de sabor amargo, en súper catadores, catadores medio o moderado y no catadores.

Se realizó la evaluación para la clasificación de los jueces sensoriales en catadores de PROP (6-n-Propiltiouracilo) siguiendo la metodología de Tepper *et al.* (2001) y Martínez-Ruiz *et al.* (2014). Los resultados obtenidos a partir de la escala de magnitud etiquetada (LMS: labeled magnitude scale), se muestran en el Anexo 23. En la Tabla 39 se presenta el promedio de los resultados de las mediciones generadas en la escala LMS (en cm) al evaluar la intensidad del sabor salado y amargo respectivamente.

Tabla 39: Intensidad de sabor promedio a NaCl y PROP en la evaluación del catador PROP

Jueces sensoriales	Solu	Soluciones de NaCl (mol/L)			Soluciones de PROP (mmol/L)		
sensoriales _	0,01	0,1	1,0	0,032	0,32	3,2	
Juez 1	1,00	2,85	6,70	1,00	2,75	6,80	
Juez 2	0,85	2,70	6,75	1,00	2,95	6,75	
Juez 3	0,80	2,65	6,60	0,90	2,85	6,80	
Juez 4	0,75	2,75	6,65	0,90	2,55	6,65	
Juez 5	0,90	2,55	6,50	0,90	2,75	6,80	
Juez 6	0,85	2,80	6,70	0,85	2,70	6,65	
Juez 7	0,95	2,90	6,80	0,95	3,00	6,80	

Con el fin de aplicar el Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) a las mediciones de la intensidad de las soluciones NaCl y PROP, se comprobó el supuesto de normalidad de Anderson-Darling empleando el programa estadístico Minitab 18 (ver Anexo 23 y Tabla 40), observándose que no se cumplió con dicha normalidad ([p<0,005] < [α = 0,05]). Por lo que a fin de evaluar si existe diferencia entre las mediciones obtenidas en cada nivel de las soluciones de NaCl y sus correspondientes PROP, aplicando el programa estadístico Minitab 18, se realizó la prueba no paramétrica de Friedman, seguido de su prueba de comparación (Ver Anexo 23).

Tabla 40: Evaluación del supuesto de normalidad en la intensidad del sabor de las soluciones NaCl y PROP

	Intensidad del sabor salado
	(NaCl) y amargo (PROP)
Estadístico AD	3.460
p-value	< 0,005

La Tabla 41 resume que hay diferencia significativa general entre los promedios de las respuestas de los jueces sensoriales en la intensidad del sabor de las soluciones NaCl y PROP (p-value = $0,000 < \alpha = 0,05$), sin embargo al aplicar la prueba de comparación de Friedman se obtuvo que no existen diferencias significativas entre las intensidades de las soluciones NaCl (0,01 mol/L) y PROP (0,032 mmol/L), NaCl (0,1 mol/L) y PROP (0,32 mmol/L) así como NaCl (1,0 mol/L) y PROP (3,2 mmol/L), por lo que en función a lo establecido por Tepper *et al.* (2001) y Martínez-Ruiz *et al.* (2014), los jueces sensoriales fueron clasificados como Catadores medio o moderado, debido a que sus respuestas individuales, entre los tres niveles de soluciones fueron similares, tal como se presentan en la Figura 25.

Tabla 41: Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para la intensidad del sabor de las soluciones NaCl y PROP

Hipótesis:

Ho: No existes diferencia significativa entre las intensidades del sabor de las soluciones NaCl y PROP.

Ha: Al menos una de las intensidades del sabor de las soluciones NaCl o PROP es diferente a las demás.

 $(\alpha = 0.05)$

Desviación estándar	S = 33.24	P-value	$\mathbf{P} = 0.000$
Prueba de Comparación	Diferencia	Estadístico de Friedman	Conclusión
1 – 4 NaCl (0,01 mol/L) y PROP (0,032 mmol/L)	9 – 12 = 3	3,42	n.s.
2 – 5 NaCl (0,1 mol/L) y PROP (0,32 mmol/L)	24 – 25 = 1	3,42	n.s.
3 – 6 NaCl (1,0 mol/L) y PROP (3,2 mmol/L)	37,5 – 39,5 = 2	3,42	n.s

n.s.: No significativo

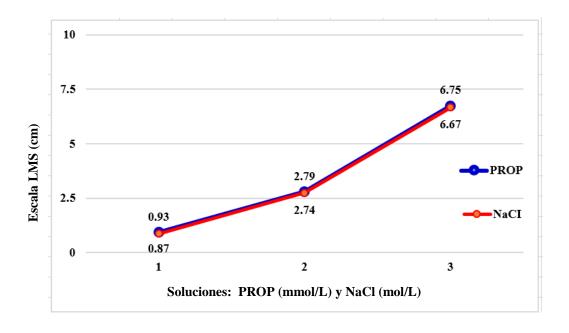


Figura 25: Clasificación de jueces sensoriales como catadores medio o moderado PROP

La evaluación del sabor amargo a través del 6-n-Propiltiouracilo (PROP) ha sido uno de los más estudiados. Bartoshuk *et al.* (1994) evidenciaron la existencia de diferencias anatómicas (densidad de papilas gustativas) y genéticas (receptores especializados) en las personas, lo que se relacionó con su capacidad para percibir con alta sensibilidad al sabor amargo. Por lo tanto la diferenciación entre no catadores, catadores medio y súper catadores se asocia a la diferencia de la percepción de la proporción de las soluciones PROP en relación a las soluciones NaCl (Bartoshuk, 1993).

Tepper (1998) señala que los catadores del PROP muestran una mayor sensibilidad a una amplia gama de estímulos orales, incluyendo sabores amargos. Los catadores PROP tienen umbrales muy bajos (es decir, alta sensibilidad a bajas concentraciones), mientras que los no catadores tienen umbrales más altos (es decir, poca sensibilidad a bajas concentraciones). Reed *et al.* (1995), señalan que el gran grupo de catadores de PROP comprende dos subgrupos; catadores moderados, que demuestran una sensibilidad moderada al gusto de los PROP, y los súper catadores, que son altamente sensibles.

4.11 EVALUACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TAS2R38 EN EL PANEL DE JUECES ENTRENADOS MEDIANTE PCR-RFLP

El gusto amargo está mediado por una familia de aproximadamente 30 tipos diferentes de receptores T2R, uno de ellos el TAS2R38 que interactúa con tioúreas como el 6-n-propiltiouracilo (PROP) (Duffy *et al.*, 2004) como parte del mecanismo de vías de transducción de señal que termina en la corteza gustativa del sistema nervioso central primario (Avenet y Lindemann, 1989), por lo que tiene un carácter hereditario (Bufe *et al.*, 2005). Dicho carácter está asociado al polimorfismo individual de tres nucleótidos (SNPs) en las posiciones 145 (rs713598 C/G), 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A), que permite la clasificación de individuos como súper catadores, catadores medianos y no catadores (Orrú *et al.*, 2015); mecanismo empleado en la evaluación del panel de jueces entrenados en sabor amargo, en la presente investigación.

La identificación de las diferencias genéticas relacionadas a la sensibilidad al sabor amargo en los jueces entrenados catadores PROP se realizó, a través de la evaluación del polimorfismo de un nucleótido, a partir de la colecta de células bucales, extracción de ADN genómico, amplificación de genes a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y evaluación del polimorfismo mediante RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción).

4.11.1 Colecta de células bucales, extracción y evaluación de ADN genómico

La colecta de células bucales se realizó a partir de los jueces sensoriales entrenados que fueron un total de siete, personas no fumadores, con edad promedio de 25 años en el rango de 21 a 37 años. Durante la colecta, los jueces sensoriales, se encontraron libres de medicamentos que pudieran afectar la percepción del gusto y olor. Asimismo todo el panel se encontró clasificado en su estado PROP como catadores medio o moderado según lo establecido por Tepper *et al.* (2001) y reportado en el punto 4.10. Los participantes fueron informados sobre el procedimiento y el objetivo del trabajo.

Siguiendo lo establecido por Aidar y Line (2007) y Promega Corporation (2014) se realizó la extracción del ADN genómico. La concentración y pureza del ADN extraido se presentan en la Tabla 42 y en el Anexo 24 la evaluación estadística de los resultados.

La cantidad de ADN total de los jueces sensoriales estuvo en un rango de $5,52 \pm 1,10$ - $21,13 \pm 1,88$ ug; se observa que hubo diferencias significativas entre los contenidos, excepto entre los jueces 3 y 4, así como entre 1, 2 y 5, en cuyos casos la cantidad de ADN estadísticamente fue similar ($\alpha = 0,05$).

Tabla 42: Resultados de la concentración y pureza del ADN genómico

Jueces	ADN					
sensoriales	ADN	ADN total	Pur	Pureza		
	(ηg/μl)	(µg)	OD 260/280	OD 260/230		
Juez 1	$115,73 \pm 9,5$	$5,79 \pm 0,47d$	$1,\!87\pm0,\!02$	$1,90 \pm 0,25$		
Juez 2	$86,00 \pm 16,6$	$4,30 \pm 0,83d$	$1,88 \pm 0,06$	$1,76 \pm 0,04$		
Juez 3	$156,40 \pm 8,3$	$7,82 \pm 0,41c$	$1,90\pm0,06$	$1,98 \pm 0,20$		
Juez 4	$166,70 \pm 21,1$	$8,34 \pm 1,06c$	$1,89 \pm 0,03$	$1,84 \pm 0,13$		
Juez 5	$110,37 \pm 22,0$	$5,52 \pm 1,10d$	$1,94 \pm 0,22$	$1,\!94\pm0,\!07$		
Juez 6	$275,67 \pm 22,2$	$13,78 \pm 1,11b$	$1,84 \pm 0,05$	$1,87 \pm 0,11$		
Juez 7	$422,57 \pm 37,5$	$21,13 \pm 1,88a$	$1,85 \pm 0,06$	$1,90 \pm 0,17$		

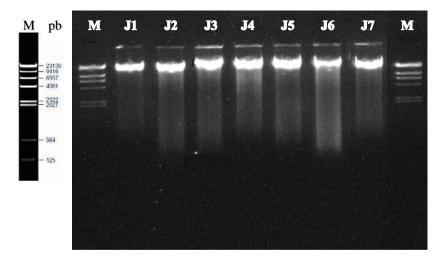
Valores seguidos por diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes (p<0,05) OD: Unidades de densidad óptica

Se observa que los valores de ADN total obtenidos se encuentran dentro de lo reportado por Lum y Le Marchand (1998), quienes a partir de células provenientes de enjuague bucal de 60 individuos, obtuvieron de 0,2 a 134,0 μg, y un promedio de 49,7 μg. Asimismo Aidar y Line (2007), reportaron de 5 a 93 μg con una mediana de 15 μg y un promedio de 20,71 μg. Por su parte Calvano *et al.* (2012), reportan una cantidad total de ADN de 11,1-38,8 μg para muestras colectadas y procesadas inmediatamente y Rogers *et al.* (2007), para muestras provenientes de un enjuague bucal, reportaron 13,02-96,46 μg.

Según Prieto (2002), la medición de la concentración de ADN está sujeta a interferencias que habitualmente están presentes en las muestras biológicas, como niveles significantes de ARN, nucleótidos sueltos o proteínas en solución, que podrían resultar en una sobre estimación de la concentración de ADN; por lo se requiere conocer el ratio entre las lecturas de las absorbancias (unidades de densidad óptica - OD) a las longitues de onda de 260 y 280 ηm (OD₂₆₀/OD₂₈₀), el que proporciona una estimación de la pureza del ácido nucleico.

La pureza del ADN (OD₂₆₀/OD₂₈₀) en todas las muestras se encontró dentro del rango aceptable ~ 1.8, es decir entre 1.8-1.9, cumpliendo con lo establecido por Desjardins y Conklin (2010). Los valores de pureza denotan que probablemente la mayor parte de las proteínas se eliminó en la etapa de lisis y precipitación de proteínas (Rogers *et al.*, 2007). Asimismo, dichos valores se encuentran dentro de lo reportado por Aidar y Line (2007) (1,16-2,23) y Calvado *et al.* (2012) (1,99-2,07). Por otro lado, Desjardins y Conklin (2010) señalan que la relación OD₂₆₀/OD₂₃₀ es una segunda medida de pureza del ADN con valores comúnmente en el intervalo de 1,8-2,2, que indica el límite de la contaminación con sales y alcohol (Rogers *et al.*, 2007), condición observada en el promedio de dicho ratio, correspondiente a las muestras evaluadas.

El resultado de la evaluación de la integridad del ADN, realizada por electroforesis en gel de agarosa, se muestra en la Figura 26. Se observa en todos los casos, que las muestras de ADN no presentan aparentemente degradación, las cuales pueden utilizarse para el proceso de amplificación por PCR. Prieto (2002), señala que para evaluar el estado de degradación que presenta una muestra de ADN se recurre a la electroforesis submarina en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Si al leer el gel bajo la luz U.V. aparece una banda de ADN única y nítida en la parte superior del gel de agarosa, el ADN está en excelentes condiciones. Si aparece una "cola" ("smear") a lo largo del carril de migración, el ADN estará degradado, serán fragmentos que migran a diferente altura por ser de diferente tamaño. El uso de ADN degradado como molde puede dar resultados negativos en una reacción PCR si no existe ninguna copia completa en la muestra del fragmento a amplificar.



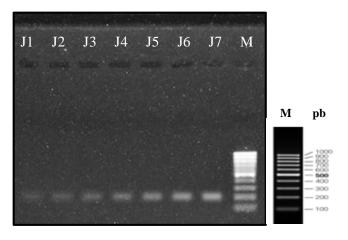
M: Marcador de peso Lambda (λ) *Hind*III DNA Ladder, J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7: Jueces sensoriales pb: Pares de bases.

Figura 26: Electroforesis de la calidad e integridad del ADN en gel de agarosa

4.11.2 Amplificación de genes responsables del sabor amargo mediante PCR

Con el fin de identificar las diferencias genéticas relacionadas a la sensibilidad al sabor amargo en el panel de jueces sensoriales entrenados, se realizó la caracterización de los haplotipos del gen TAS2R38, empleando los cebadores 1Fmut y 1Rmut así como 2Fmut y 2Rmut, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Los cebadores 1Fmut y 1Rmut se utilizaron para amplificar la zona correspondiente al SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor TAS2R38, responsable de la percepción del sabor amargo, en catadores medio o moderados PROP (Orrú *et al*; 2015). Según lo esperado, se logró amplificar un fragmento de 203 pb (del nucleótido 98 al nucleótido 300) en todos los casos de los jueces sensoriales entrenados (Orrú *et al*; 2015) (Figura 27).

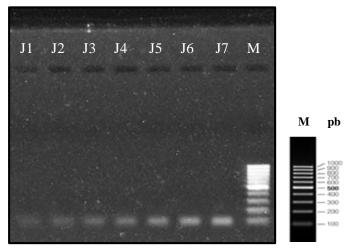


M: Marcador de peso Gene Ruler DNA Ladder, J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7: Jueces sensoriales pb: Pares de bases.

Figura 27: Amplificación de productos de PCR del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor TAS2R38

Asimismo los cebadores 2Fmut y 2Rmut se utilizaron para amplificar un fragmento de 194 pb correspondiente a la zona que contiene los SNPs en la posición 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del receptor TAS2R38, responsable de la percepción del sabor amargo, en súper catadores PROP (Orrú *et al.*, 2015).

En la Figura 28 se observá que en ningún caso se consiguió amplificar el fragmento esperado, es decir no se observaron amplicones de 194 pb, condición que no permite establecer si los jueces sensoriales entrenados presentan o no los SNPs responsables de otorgar el carácter de súper catador según lo establecido por Orrú *et al.* (2015); por lo que sería necesario optimizar las condiciones de amplificación con esta pareja de cebadores.



M: Marcador de peso Gene Ruler DNA Ladder; J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7: Jueces sensoriales, pb: Pares de bases

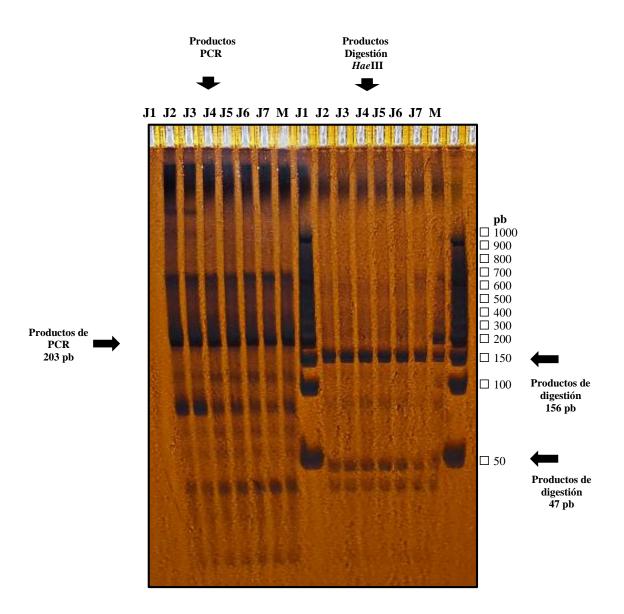
Figura 28: Amplificación de productos de PCR de los SNPs en las posiciones 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del receptor TAS2R38

4.11.3 Resultados de la evaluación del polimorfismo mediante RFLP

Se realizó la evaluación del polimorfismo individual en el SNP de la posición del nucleótido 145 (rs713598 C/G) del gen receptor TAS2R38, empleando la digestión con la endonucleasa *Hae*III.

En la Figura 29 se muestra el resultado de la evaluación de los productos de digestión con la enzima *Hae*III, obtenido por electroforesis en gel de poliacrilamida. Los productos de la digestión se dirigieron a los niveles 47 y 156 pb, por lo que los cambios introducidos en el cebador 1Fmut y 1Rmut permitió reconocer el alelo C del alelo G del SNP rs713598, tal como lo refiere Orrú *et al.* (2015). Dicha condición fue observada en todas las muestras de los jueces sensoriales entrenados, por lo que presentan el polimorfismo rs713598. En forma comparativa se presenta los productos de PCR amplificados (primeros 7 carriles), los que en gel de poliacrilamida se ubicaron a nivel de las 203 pb, como lo observado en la electroforesis en gel de agarosa.

Por lo tanto los jueces sensoriales entrenados en el sabor amargo en quinua, pueden ser considerados, a nivel genético, como catadores medio o moderado, evidenciado por la presencia del polimorfismo individual observado en el SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del gen receptor TAS2R38, tal como lo refiere Orrú *et al.* (2015).



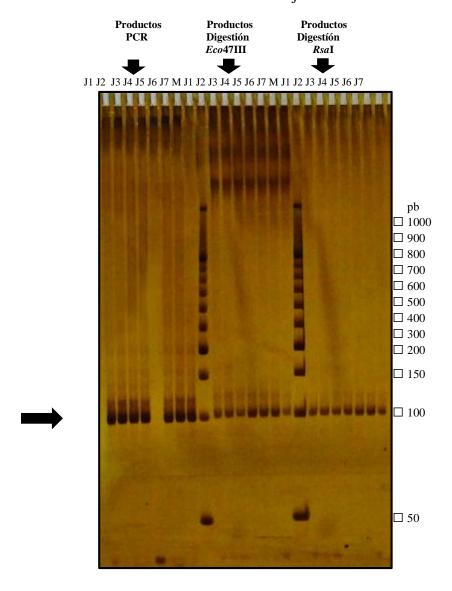
M: Marcador de peso Gene Ruler DNA Ladder, J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7: Jueces sensoriales, pb: Pares de bases

Figura 29: Electroforesis de productos de PCR y de fragmentos RFLP del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) del receptor TAS2R38

Por otro lado se realizó la evaluación de los polimorfismos individuales (SNPs) en las posiciones de los nucleótidos 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del gen receptor TAS2R38, empleando la digestión con las endonucleasas *Eco*47III y *Rsa*I, respectivamente.

En la Figura 30 se muestra el resultado de la evaluación de los productos de digestión provenientes de la acción con dichas enzimas, obtenido por electroforesis en gel de poliacrilamida. Los productos de la digestión no se dirigieron a los niveles 45 y 149 pb, por lo que los cambios introducidos en los cebadores 2Fmul y 2Rmut no permitieron generar la

amplificación y posterior a ello, la posibilidad del reconocimiento de los alelos C y G de los SNPs rs1726866 y rs10246939, como lo refiere Orrú *et al.* (2015), condición que fue observada en la evaluación de todas las muestras de los jueces sensoriales entrenados.



M: Marcador de peso Gene Ruler DNA Ladder, J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7: Jueces sensoriales, pb: Pares de bases

Figura 30. Electroforesis de productos de PCR y de de fragmentos RFLP de los SNPs en las posiciones 785 (rs1726866 C/T) y 886 (rs10246939 G/A) del receptor TAS2R38

Asimismo en la Figura 30, en forma comparativa, se presenta los productos de PCR amplificados (primeros 7 carriles), los que en gel de poliacrilamida se ubicaron a nivel de las 100 pb, como lo obtenido en gel de agarosa (punto 4.11). Por lo tanto no es posible establecer que los jueces sensoriales entrenados presenten o no los SNPs responsables de

otorgarles el carácter de súper catador PROP, por lo que sería necesario optimizar las condiciones de amplificación con la pareja de cebadores 2Fmut y 2Rmut.

Cabe resaltar que en la evaluación de los jueces sensoriales entrenados empleando la prueba sensorial del catador PROP (6-n-Propiltiouraciolo) los jueces fueron clasificados como catadores medio PROP, condición similar obtenida a través de la evaluación genética de la presencia del polimorfismo del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) en la que se concluyó que los jueces sensoriales entrenados en sabor amargo presentan dicho polimorfismo asociado a los catadores medio PROP.

Dado que la percepción del gusto desempeña un papel clave en la evaluación sensorial de los alimentos, la evaluación genética de los jueces sensoriales entrenados, permite comprender las diferencias en los patrones de funcionamiento y en el desempeño de los individuos empleados como instrumentos de medición: en el control de calidad, investigación y desarrollo, estimación de vida útil de alimentos, entre otras aplicaciones; pudiendo conducir al desarrollo de medidas adecuadas en el proceso de su entrenamiento y uso en la industria alimentaria, orientados a tener confianza en la calidad de la respuesta sensorial generada.

V. CONCLUSIONES

- 1. Las variedades de quinua Blanca de Hualhuas (BH), Rosada de Huancayo (RHY) y Pasankalla (PK) presentaron Grado 1 de calidad, la composición química mostró diferencias (p<0,05) y microbiológicamente cumplió con la normativa peruana.
- 2. El rendimiento de los almidones BH, RHY y PK y su composición química mostraron diferencias (p<0,05), el bajo contenido de amilosa los clasificó como almidones cereos. Los gránulos poligonales presentaron tamaño pequeño, patrón XRD tipo A y alta cristalinidad. El almidón PK con menor tamaño, puede producir una sensación cremosa en la boca deseable en formulaciones alimenticias bajas en grasa o sin grasa y en productos tipo emulsión (aderezos para ensaladas).
- 3. Las propiedades térmicas y de pegado de los almidones mostraron diferencias (p<0,05). El almidón PK con alta viscosidad máxima (PV) y baja viscosidad setback (SB) podría usarse en alimentos que requieran mantener su consistencia, sin gelificarse después del enfriamiento, como los postres cremosos instantáneos.
- 4. Las propiedades de los geles de almidones mostraron diferencias (p<0,05). La mayor capacidad de retención de agua y menor sinéresis del almidón PK lo hace más estable a la congelación y descongelación y puede ser utilizado en productos como rellenos de pasteles, alimentos infantiles y sopas. Los almidones BH y RHY con mayor sinéresis pueden ser utilizados en alimentos que requieren ser almacenados en refrigeración y necesitan cierta exudación de humedad para proporcionar una apariencia fresca, como los flanes o salsas.
- 5. La conformación del panel de jueces entrenados con pruebas discriminativas mostró acierto en las evaluaciones y homogeneidad y precisión en sus respuestas. La calidad sensorial del sabor amargo en la variedad BH fue débil (1,8 cm), en RHY muy débil (0,8 cm) y en PK ausente (0 cm).
- 6. La evaluación con la prueba del estado catador PROP así como la evaluación genética del polimorfismo del SNP en la posición 145 (rs713598 C/G) concluyó que los jueces sensoriales entrenados en sabor amargo se clasifican como catadores medio PROP con habilidad sensorial para evaluar el sabor amargo en quinua.

VI. RECOMENDACIONES

- Obtener los almidones de las quinuas de las variedades en estudio a escala industrial y realizar aplicaciones en la obtención de productos orientado a la mejora de la calidad de los alimentos y su diversificación.
- Realizar la caracterización fisicoquímica y funcional-tecnológica de los almidones de otras variedades de quinua, así como de otros cereales andinos para su mejor uso en la industria alimentaria.
- Realizar el entrenamiento de los jueces sensoriales en productos a base de quinua que permitan definir los niveles de incorporación en alimentos, para la mejor calidad sensorial y su aceptabilidad en el mercado.
- Realizar estudios de evaluación del polimorfismo del gen TAS2R38 relacionado con la percepción del sabor amago en una muestra de individuos, con el fin de establecer sus hábitos de consumo y preferencias relacionados con alimentos nutritivos que presentan factores antinutricionales y de composición asociados al sabor amargo en el ámbito de la nutrigenómica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AACC (American Association of Cereal Chemist, Estados Unidos de América).
 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemist. 10 ed. St.
 Paul, Mineapolis, Minnesota, Estados Unidos de América. 2 v.
- 2. Abugoch, L; Romero, N; Tapia, C; Rivera, M; Silva, J. 2008. Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein isolates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(12):4745-4750. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18489119.
- 3. Adebowale, KO; Lawal, OS. 2003. Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behavior of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starchon heat moisture treatments. Food Hydrocolloids. 17(3):265–272. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X02000760.
- 4. Adler, E; Hoon, MA; Mueller, KL; Chandrashekar, J; Ryba, NJ; Zuker CS. 2000. A novel family of mammalian taste receptors.Cell. 100(6):693-702. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10761934.
- Aguilar, P; Nieto, C. 1981. Origen y evolución de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina, Centro de Informática para la Investigación Agrícola (CIPIA). 28 p.
- Ahamed, NT; Singhal, RS; Kulkami, PR; Palb, M. 1996a. Physicochemical and functional properties of Chenopodium quinoa starch. Carbohydrate Polymers. 31(1-2):99-103. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861796000343.

- 7. Ahamed, NT; Singhal, RS; Kulkarni, PR; Kale, DD; Pal, M. 1996b. Studies on *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus paniculatas* starch as biodegradable fillers in LDPE films. Carbohydate Polymers. 31(3):157-160. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861796000197.
- 8. Ahumada, A; Ortega, A; Chito, D; Benítez, R. 2016. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmaceuticas. 45(3):438- 469. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-74182016000300006&lng=en&nrm=iso&tlng=es.
- 9. Aidar, M; Line, SR. 2007. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. Brazilian Dental Journal.18(2):148-52. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17982556.
- Aluko, R;Monu, L. 2003. Functional and bioactive properties of quinoa seed proteinhydrolysates. Journal of Food Science.68(4):1254-1258. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.semanticscholar.org/paper/Functional-and-Bioactive-Properties-of-Quinoa-Seed-AlukoMonu/771b3a71b789ae5877adc131b8c 63f1f9d1f7cea
- Alvarez-Jubete, L; Arendtb, EK;Gallagher, E. 2010. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. Trends in Food Science & Technology. 21(2):106-113. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S09242244090 02945.
- 12. Anabalon, L, Thomet, M. 2009. Comparative analysis of genetic and morphologic diversity among quinoa accessions (*Chenopodium quinoa* Willd.) of the South of Chile and highland accessions. Journal of Plant Breeding and Crop Science. 1(5):210–216. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en

- $http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379426108_Leonardo~20 and \% 20 Isla.pdf~.$
- 13. Ando,H; Chen,YC; Tang,H; Shimizu, M; Watanabe, K; Mitsunaga, T. 2002. Food components in fractions of quinoa Seed.Food Science and Technology Research. 8(1):80–84. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/8/1/8_1_80/_pdf.
- 14. Anzaldúa-Morales, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza, España, Acribia.198 p.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 2000. Official methods of analysis. 17 ed. Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos de América. 2 v.
- Apaza,V; Cáceres, G; Estrada, R; Pinedo, R. 2013. Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú. Lima, Perú, Instituto Nacional de Innovación Agraria, FAO. 79 p.
- 17. Appelqvist, IAM; Debet, MRM. 1997. Starch–biopolymer interactions: A review. Food Reviews International. 13(2):163–224. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1080/87559129709541105.
- 18. Arzapalo, D; Huamán, K; Quispe, M; Espinoza, C. 2015. Extracción y caracterización del almidón de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) Negra Collana, Pasankalla Roja y Blanca Junín. Revista de la Sociedad Química del Perú. 81(1):44-54. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v81n1/a06v81n1.pdf.
- Atwell,WA;Patrick,BM;Johnson, LA; Glass, RW. 1983. Characterization of quinoa starch. Cereal Chemistry. 60:9-11. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1983/Documents/CC1983 a03.html.
- 20. Atwell, WA; Hyldon, RG; Godfrey, PD; Galle, EL; et al. 1988. Germinated quinoa flour to reduce the viscosity of starch foods. Cereal Chemistry. 65(6):508-509. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en

- https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1988/Documents/CC1988 a150.html.
- 21. Avenet, P; Lindemann, B. 1989. Perspectives of taste reception. Journal of Membrane Biology. 112(1):1-8. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2687472.
- 22. Bartoshuk, LM. 1993. The biological basis of food perception and acceptance. Food Quality and Preference. 4(1-2):21-32. Consultado el 18 abr. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/0950-3293(93)90310-3.
- 23. Bartoshuk,LM;Duffy,VB;Miller,IJ. 1994. PTC/PROP tasting: anatomy psychophysics and sex effects. Physiology & Behavior. 56(6):1165-1171. Consultado el 02 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90361-1.
- 24. Bassam, B; Caetano-Anolles, G; Gresshoff, G. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Anal. Biochem. 196(1):80-83.Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90120-I.
- 25. Bazile, D; Santivañez, T. (eds.) 2014. Introducción al estado del arte de la quinua en el mundo en estado del arte de la quinua en el mundo en 2013. Santiago de Chile, FAO CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement). 712 p.
- 26. Bean, MM; Setser, CS. 1992. Starch. *In* Food Theory and Applications. J. Bowers (ed.). New York, MacMillan, Estados Unidos de América. p. 70-118.
- 27. Behrens, M; Meyerhof, W. (eds.) 2009. Mammalian bitter taste perception In Chemosensory Systems in Mammals, Fishes, and Insects. (Results and Problems in Cell Differentiation). 47:77-96. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://link.springer.com/chapter/10.1007/400_2008_5.
- 28. Behrens, M; Meyerhof, W. 2006. Bitter taste receptors and human bitter taste perception. Cellular and Molecular Life Sciences. 63(13):1501-1509. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16732425.
- 29. Behrens, M; Meyerhof, W. (eds.) 2017. The vertebrate gustatory system en flavour. From Food to Perception. Oxford, United Kingdom, Wiley. 400 p.

- 30. Belitz, HD; Grosch, W; Schieberle, P. 2012. Química de los alimentos. 3. ed. Zaragoza, España, Acribia. 910 p.
- 31. BeMiller, JM; Huber, KC. (eds.).2010. Carbohidratos In Fennema química de los alimentos. Damodaran, S; Parkin, KL; Fennema, OR (eds.). 3. ed.Zaragoza, España, Acribia. 636 p.
- 32. BeMiller, JN. 2007. Carbohydrate chemistry for food scientists. 2nd ed. St. Paul, Minnesota, Estados Unidos de América, AACC Intl. 389 p.
- 33. Berlanga, V; Rubio, MJ. 2012 Clasificación de pruebas no paramétricas, Cómo aplicarlas en SPSS. REIRE (Revista d'Innovació i Recerca en Educació). 5(2):101-113. Consultado el 24 abr. 2018. Disponible en https://www.redib.org/recursos/Record/oai_articulo1434849-clasificaci%C3%B3n-pruebas-param%C3%A9tricas-aplicarlas-spss
- 34. Berti, C; Riso, P; Monti, L; Porrini, M. 2004. In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. European Journal of Nutrition. 43(4):198–204. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15309439
- Betancur-Ancona, D. 2001. Physicochemical and functional characterization of baby lima bean (Phaseolus lunatus) starch. Starch /Stärke. 53(5):219— 226.
 Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://conacyt.elsevierpure.com/es/publications/physicochemical-and-functional-characterization-of-baby-lima-bean
- 36. Bhargava, A; Shukla, S; Ohri, D. 2006. Chenopodium quinoa-An Indian perspective. Industrial Crops and Products. 23(1):73-87. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.04.002.
- 37. Biliaderis, CG; Maurice, T; Vose, J. 1980. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. Journal of Food Science. 45(6):1669-1674. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07586.x.

- 38. Biliaderis, CG. 1983. Differential scanning calorimetry in food research. A review. ood Chemistry.10(4):239-265. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/0308-8146(83)90081-X.
- 39. Biliaderis, CG; Page, CM; Maurice, TJ; Juliano, BO. 1986. Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. Journal of Agricultural Food Chemistry.34(1):6-14. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1021/jf00067a002.
- 40. Biliaderis, CG; Mazza, G; Przybylski, R. 1993. Composition and physicochemical properties of starch from cow cockle (Saponaria vaccaria L.) seeds. Starch. 45(4): 121-127. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.19930450402.
- 41. Bolivar, AM; Rojas, A; García-Lugo, P. 2013. PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. Avances en Biomedicina publicación oficial del Instituto de Inmunología Clínica Mérida. Venezuela. 3(1):25-33. Consultado el 15 may. 2018. Disponible en http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/biomedicina/article/view/4584.
- 42. Brown, ME. 1998. Handbook of thermal analysis and calorimetry. Volumen I. Principles and practice. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science B.V. 725 p.
- 43. Bufe, B; Breslin, PA; Kuhn, C; Reed, DR; Tharp, CD; Slack, JP; Kim, UK; Drayna, D; Meyerhof, W. 2005. The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and pro-pylthiouracil bitterness perception. Current Biology.15(4):322-327. Consultado el 22 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15723792.
- 44. Bufe, B; Hofmann, T; Krautwurst, D; Raguse, JD; Meyerhof, W. 2002. The human TAS2R16 receptor mediates bitter taste in response to beta-glucopyranosides. Nature Genetics. 32(3):397-401. Consultado el 22 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12379855.
- 45. Buleon, A; Colonna, P; Planchot, V; Ball, S. 1998. Mini review starch granules: structure and biosynthesis. International Journal of Biological Macromolecules.

- 23(2):85-112. Consultado el 18 abr. 2018 Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9730163.
- 46. Bustos Vázquez, ZG; Gómez Aldapa, CA; Tellez Luis, SJ; Jonguitd Pratt, LE.; Trejo Ramírez, PM; Ochoa Martínez, A; Castro Rosas, J. 2010. Caracterización del almidón de dos variedades de sorgo del Estado de Tamaulipas. In XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Pachuca de Hidalgo, México, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. p. 1-13. Consultado el 22 mar. 2018. Disponible en https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/3573/.
- 47. Cáceres, MC. 2016. Evaluación sensorial del sabor amargo de doce accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) y su correlación con el contenido de saponinas. Tesis Ing Ind Alimentarias. Lima, Perú, UNALM. 207 p.
- 48. Calvano, E; Nivoloni, P; Falagan, P; Lopes T; Granjeiro, JM; Fonte Amorim. 2012. Buccal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA suitable for polymorphism genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. Journal of Applied Oral Science. 20(4):467-71. Consultado el 22 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3881822/.
- 49. Carpenter, RP; Lyon, DH; Hasdell, TA. 2002. Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimento. Zaragoza, España, Acribia. 191 p.
- 50. CENAN-INS (Centro Nacional de Alimentación y Nutrición Instituto Nacional de Salud). 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos. 8. ed. Lima, Perú, Ministerio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud. 70 p.
- 51. Chandrashekar, J; Hoon, MA; Ryba, NJP; Zuker, C. 2006. The receptors and cells for mammalian taste. Nature. 444(7117):288-294. Consultado el 22 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17108952.
- 52. Chaudhari, N; Roper, SD. 2010. The cell biology of taste. Journal of Cell Biology. 190(3):285-296. Consultado el 23 abr. 2018.. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20696704.
- 53. Chauhan, GS; Eskin, NAM; Tkachuk, R. 1992a. Nutrients and antinutrients in quinoa seed. Cereal Chemistry. 69(1):85-88. Consultado el 03 de mar. 2018. Disponible en https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1992/

- Documents/69_85.pdf.
- 54. Chauhan, G; Zillman, R; Eskin, N. 1992b. Dough mixing and breadmaking properties of quinoa—wheat flour blends. International Journal of Food Science & Technology. 27(6):701-705. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb01241.x.
- 55. Chee, S; Chin, B. 2009. Review article. DNA, RNA, and protein Extraction: The past and the present. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2009:Article ID 574398. 10 p. Consultado 04 abr. 2018. Disponible en http://dx.doi.org/10.1155/2013/628968.
- 56. Cheng-Yi, L; Mei-Lin, T; Kuo-Hsuen, T. 1996. Effect of amylose content on the rheological property of rice starch. Cereal Chemistry. 73(4):415-420. 22 may. 2018. Disponible en https://pdfs.semanticscholar.org/e06c/afbc801cd09a76dfaf73891141 e55851f537.pdf.
- 57. Clédat, D; Battu, S; Mokrini, R; Cardo, P. 2004. Rice starch granule characterization by flow cytometry scattering techniques hyphenated with sedimentation field-flow fractionation. Journal of. Chromatography. 1049(1-2):131–138. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15499925.
- 58. Cogliatti, M; Heter, D. 2016. Perspectivas de producción de quinua en la región agrícola del centro de la provincia de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina, Universidad del Centro, Centro de Investigaciones Integradas sobre Sistemas Agronómicos Sustentables (CIISAS), Biolab-Azul. 91 p. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en ftp://www1.faa.unicen.edu.ar/pub/Quinua.pdf.
- 59. Colonna, P; Buleon, A. 1992. New insights on starch structure properties. In 9. International Cereal Bread Congress. Paris, France, ICC.p. 25–42.
- 60. Contreras-Jimenez,B; Torres-Vargas, OL; Rodríguez-García, ME. 2019. Physicochemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and isolated starch, Food Chemistry. 298(124982). Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124982

- 61. Costell, E; Durán, L. 1981. El análisis sensorial en el control de la calidad de los alimentos III. Planificación, selección de jueces y diseño estadístico. Revista Agroquímica y Tecnología Alimentaria. 21(4):454-470. Consultado el 23 jun. 2018. Disponible en https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=950669
- 62. Cozier, YC; Palmer, JR; Rosenberg, L. 2004. Comparison of methods for collection of DNA samples by mail in the Black Women's Health Study. Annals of Epidemiology.14(2):117-122. Consultado 14 jul. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15018884.
- 63. Crosbie, GB; Ross, AS (eds.). 2007. Interpretation or RVA curves en The RVA handbook. Mineapolis, Minnesota, Estados Unidos de América, AACC International. 152 p.
- 64. Cross, HR; Moen, R; Stanfield, M. 1979. Training and testing of judges for sensory analysis of meat quality. Food Technology. 32:48-54.
- 65. Czuchajowska, Z; Klamczynski, A; Paszczynska, B; Baik, BK. 1998. Structure and functionality of barley starches. Cereal Chem. 75(5):747–754. Consultado el 14 jul. 2018. año. Disponible en https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.5.747.
- 66. Dale, JW; Von Schantz, M. 2002. From genes to genomes. Concepts and applications of DNA technology. Oxford, United Kingdon, Wiley. 359 p.
- 67. Desjardins, P; Conklin, D. 2010. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acid. Journal of Visualized Experiments. 45:1-5. Consultado 21 21 mar. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21189466.
- Drayna, D; Coon, H; Kim, UK; Elsner, T; Cromer, K; Otterud, B; Baird, L; Peiffer, AP; Leppert, M. 2003. Genetic analysis of a complex trait in the Utah Genetic Reference Project: a major locus for PTC taste ability on chromosome 7q and a secondary locus on chromosome 16p. Human Genetics. 112(5-6):567-572. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://link.springer.com/article/10.1007/s00439-003-0911-y
- 69. Drewnowski, A; Henderson, SA; Barrat-Fornell, A. 2001b. Genetic taste markers and food preferences. Drug Metabolism Disposition. 29(4 pt2):535-538.

- Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11259346.
- 70. Drewnowski, A; Kristal, A; Cohen, J. 2001a. Genetic taste responses to 6-n-propylthiouracil among adults: a screening tool for epidemiological studies. Chemical Senses. 26(5):483-489. Consultado el 04 abr. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11418493.
- 71. Duffy, VB; Davidson, AC; Kidd, JR; Kidd, KK; Speed WC, Pakstis AJ, Reed DR, Snyder DJ, Bartoshuk LM. 2004. Bitter receptor gene (TAS2R38), 6-n-propylthiouracil (PROP) bitterness and alcohol intake. Alcoholism: Clinical and Experimental Research. 28(11):1629-1637. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15547448.
- 72. DuPont, MS; Muzquiz, M; Estrella, I; Fenwick, GR; Priceo, KR. 1994. Relationship between the sensory properties of lupin seed-with alkaloid and tannin content. Journal of the Science Food Agriculture. 65(1):95-100. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/jsfa.2740650114.
- 73. Eliasson, C; Kim, HR. 1992. Changes in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pastes during freeze-thaw treatments. I. A rheological approach for evaluation of freeze-thaw stability. Journal of Texture Studies. 23(3):279-295. Consultado el 13 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1992.tb00526.x.
- 74. Ellis, RP; Cochrane, MP; Dale, MFB; Duffus, CM; Lynn, A; Morrison, IM; Prentice, RDM; Swanston, JS; Tiller, SA.1998. Starch production and industrial use. Journal of the Science and Food Agriculture.77(3):289-311. Consultado el 26 jul. 2018. Disponible en https://pubag.nal.usda.gov/catalog/1399478.
- 75. Elsohaimy, SA; Refaay, TM; Zaytoun, MAM. 2015. Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. Annals of Agricultural Science. 60(2):297-305. Consultado el 23 may. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.007.
- 76. Espinoza, J. 2007. Evaluación sensorial de los alimentos. La Habana, Cuba, Editorial Universitaria.129 p.

- Estrada, R; Apaza, V; Delgado, P. 2014. Tecnología de producción de quinua para el mercado interno y externo. Curso modular virtual del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Lima, Perú, INIA. 250 p.
- 78. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1998. Underutilized Andean food crops. Latin America and the Caribbean, Rome, Italy. 17 p.
- 79. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. Año internacional de la quinua, un futuro sembrado hace miles de años: Distribución y producción (en línea). Consultado el 15 de ene. 2017. Disponible en http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/distribution-and-production/es/
- 80. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italia). 2019. Plataforma de información de la quinua (en línea). Roma, Italia. 1 p. Consultado el 24 abril 2019. Disponible en http:// http://www.fao.org/in-action/quinoa-platform/quinua/biodiversidad-de-la-quinua/es/
- 81. Fermín, N; Venero, P; Conchado, D; García, J; Álvarez, C. 2009. Entrenamiento sensorial para la evaluación de la calidad de un jamón endiablado. Revista UDO Agrícola.9(3):640-652. Consultado 22 ene. 2919. Disponible en http://www.bioline.org.br/pdf?cg09078.
- 82. Ferreiro, ME; Grattapagia, D. 1996. Introducao ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 ed. Brasília, Brasil, EBRAPA. 220 p.
- 83. Fisher, C; Scott, TR. 2000. Flavores de los alimentos. Zaragoza, España, Acribia. 212 p.
- 84. Francis, G; Kerem, Z; Harinder, PSM; Becker, K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition. 88(6):587–605. Consultado el 23 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12493081.
- 85. Fuentes, C; Perez-Rea, D; Bergenstahl, B; Carballo, S; Sjoo, M. y Nilsson L. 2019. Physicochemical and structural properties of starch from five Andean crops grown in Bolivia. International Journal of Biological Macromolecules. 125: 829-838. Consultado 22 ene. 2919. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30557639.

- 86. Gallant, DJ; Bouchet, B; Baldwin, PM. 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. Carbohydrate Polymers. 32(3-4):177-191.Consultado el 11 ene. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0144-8617(97)00008-8
- 87. Galwey, NW. 1993. The potential of quinoa as a multipurpose crop for agricultural diversification: a review. Industrial Crops and Products. 1(2-4):101-106. Consultado el 02 feb. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/0926-6690(92)90006-H.
- 88. Gani, A; Wani, SM; Masoodi, FA; Salim, R. 2013. Characterization of rice starches extracted from Indian cultivars. Food Science and Technology International. 19(2):143-152. Consultado el 23 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23291829.
- 89. Garciá-Closas, M; Egan KM; Abruzzo, J; Newcomb, PA; Titus-Ernstoff, L; Franklin, T; Bender, PK; Beck, JC; Le Marchand, L; Lum, A; Alavanja, M; Hayes, RB; Rutter, J; Buetow, K; Brinton, LA; Rothman, N. 2001. Collection of genomic DNA from adults in epidemiological studies by buccal cytobrush and mouthwash. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 10(6):687-696. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11401920.
- 90. Garibyan, L; Avashia, N. 2013. Polymerase Chain Reaction. Journal of Investigative Dermatology.133(3):1-4. Consultado el 11 ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23399825.
- 91. Gee, J; Price, K; Ridout, I; Johnson, I; Fenwick, G. 1989. Effects of some purified saponins on transmural potential difference in mammalian small intestine. Toxicology In Vitro. 3(2):85-90. Consultado el 19 feb. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20702304.
- 92. Gibson, TS; Solah, VA; McCleary, BV. 1997. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. Journal of Cereal Science. 25(2): 111-119. Consultado 11 de ene. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0086.

- 93. Gómez-Caravaca, AM; Iafelice, G; Verardo, V; Marconi, E; Caboni, MF. 2014. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa*Willd.). Food Chemistry. 157:174-178. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24679767.
- 94. Güçlü-Üstündag, O; Mazza, G. 2007. Saponins: Properties, Applications and Processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 47(3):231-258. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17453922.
- 95. Gutiérrez, H; Vara, R. de la. 2008, Análisis y diseño de experimentos.2 ed. México, México, McGraw-Hill/Interamericana. 565 p.
- 96. Guzmán, B; Cruz, DL; Alavarado, JA; Mollinedo, P. 2013. Cuantificación de saponinas en muestras de Cañihua Chenopodium pallidicaule Allen. Bolivian Journal of Chemistry. 30(2):131-136. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602013000200004.
- Hagedorn, S; Kaphammer, B. 1994. Microbial biocatalysis in the generation of flavor and fragrance chemicals. Annual Review of Microbiology. 48:773-800.
 Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7826026
- 98. Hernández-Medina, M; Torruco-Uco, JG; Chel-Guerrero, L; Betancur-Ancona, D. 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Ciência e Tecnología de Alimentos Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas. 28(3):718-726. Consultado el 19 feb. 2019. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000300031.
- 99. Hirose, Y; Fujita, T; Ishii, T; Ueno, N. 2010. Antioxidative properties and flavonoid composition of Chenopodium quinoa seeds cultivated in Japan. Food Chemistry. 119(4):1300-1306. Consultado el 23 jun. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.008.

- 100. Hizukuri, S; Takeda, Y; Yasuda, M. 1981. Multi-branched nature of amylose and the action of de-branching enzymes. Carbohydrate Research. 94(2):205-213.Consultado el 26 feb. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80718-1.
- Hizukuri, S. 1985. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and crystalline structure of starch granules. Carbohydrate Research.
 141(2):295 306. Consultado el 19 feb. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90461-0.
- 102. Hoehn, E; Baumgartner, D. (eds.) 2017. Fruits and vegetables en bitterness: perception, chemistry and food processing. Aliani, M; Michael, NA. (eds.). Oxford, United Kingdom, Wiley Institute of Food Technologists United Kingdon. 237 p.
- 103. Hoon, MA; Adler, E; Lindemeier, J; Battey, JF;Ryba, NJ; Zuker, CS. 1999. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. Cell. 96(4):541-551.Consultado 18 feb. 2019. Disponible enhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10052456
- 104. Huang, AL; Chen, X; Hoon, MA; Chandrashekar, J; Guo, W; Tränkner, D; Ryba, NJP; Zuker, CS.2006. The cells and logic for mammalian sour taste detection. Nature. 442: 934-938. Consultado el 26 feb. 2019. Disponible en https://www.nature.com/articles/nature05084.
- 105. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food).
 1983. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. 2.
 ed. Zaragoza, España. Acribia. 431p.
- 106. IFT (Institute of Food Technologists). 1981. Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. Food Technology. 35(11):50-59. Consultado 02 abr. 2019. Disponible enhttps://eurekamag.com/research/013/190/013190212.php
- 107. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2015.
 (Estudio) El Mercado y la producción de quinoa en el Perú. Lima, Perú, IICA. 178
 p.

- 108. INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2015. NTP ISO 13299:2015. Análisis sensorial. Metodología. Guía para establecer un perfil sensorial. Lima, Perú, INICAL. 33 p.
- 109. INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual). 2009. NTP 205.062:2009. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Requisitos. Lima, Perú, INDECOPI. 15 p.
- 110. INDECOPI. 2014a. NTP-ISO 4121: 2008 (revisada el 2014). Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. Lima, Perú, INDECOPI. 14 p.
- 111. INDECOPI. 2014b. NTP-ISO 8586. Análisis sensorial. Directrices generales para la selección, formación y supervisión de catadores seleccionados y catadores expertos. Lima, Perú, INDECOPI. 44 p.
- 112. INDECOPI. 2014c. NTP 205.062:2014. Granos andinos. Quinua. Requisitos. 2 ed. Lima, Perú, INDECOPI. 15 p.
- 113. INEI (Instituto Nacional de Estadística e informática). 2014. Volumen exportado de quinua creció 71.0% (en línea). Consultado el 23 de ene. 2014. Disponible en: http://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/volumen-exportado-de-quinua-crecio-710-7455/
- 114. Inouchi, N; Nishi, K; Tanaka, S; Asai, M; Kawase, Y; Hata, Y; Konishi, Y; Yue, S; Fuwa, H. 1999. Characterization of amaranth and quinoa starches. Journal of Applied Glycoscience. 46(3): 233-240. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://pdfs.semanticscholar.org/04c6/50acac67770794e4f4b5f8941f72f556a952.pd f
- 115. Iturriaga, L; Lopez, B; Anon, A. 2004. Thermal and physicochemical characterization of seven argentine rice flours and starches. Food Research International. 37(5):439-447. Consultado el 13 mar 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.005
- Jacobsen, S. 2003. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Food Reviews International. 19(1-2):167–177. Consultado el 13 mar. 2019.
 Disponible en https://doi.org/10.1081/FRI-120018883

- 117. Jan, K.; Panesar, PS; Rana, JC; Singh, S. 2017. Structural, thermal and rheological properties of starches isolated from Indian quinoa varieties, International Journal of Biological Macromolecules 102: 315-322. Consultado el 28 may. 2019. Disponible en https://www.deepdyve.com/lp/elsevier/structural-thermal-and-rheological-properties of starches isolatedtw3466ULY8?impressionId=5a7979c5d8fd7&i __medium=docview&i_campaign=recommendations&i_source=recommendations.
- 118. Jane, JL; Kasemsuwan, T; Leas, S; Ames, I; Zobel, H; Robyt, JF. 1994. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. Starch/Stärke.46(4):121-129. Consultado el 16 jun. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.19940460402.
- 119. Karim, AA; Norziah, MH; Seow, CC. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. Food Chemistry. 71(1): 9-36. Consultado el 26 jun. 2019.. Disponible enhttps://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00130-8
- 120. Kemp, SE; Hollowood, T; Hort, J. 2012. Sensory evaluation. A practical handbook. Oxford, United Kingdom, Wiley. 196 p.
- 121. Kent, NL. 1987. Tecnología de los cereales. Introducción para el estudio de la ciencia de los alimentos y agricultura. Gonzáles, M. (ed.). Zaragoza, España, Acribia. 221p.
- 122. Kim, UK; Jorgenson, E; Coon, H; Leppert, M.; Risch, N; Drayna, D. 2003. Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. Science. 299(5610):1221-1225. Consultado el 17 jun. 2019. Disponible enhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12595690.
- Klug, WS; Cummings, MR; Spencer, CA. 2008. Conceptos de genética. 8. ed. Madrid, España, Pearson Prentice Hall. 884 p.
- 124. Koziol, MJ. 1991. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)). Journal of the Science of Food and Agriculture. 54(2):211-219. Consultado el 17 jun. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540206.
- 125. Koziol, MJ. 1992. Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of Food Composition and Analysis. 5(1):35-

- 68.Consultado 05 jul. 2019. Disponible enhttps://doi.org/10.1016/0889-1575(92)90006-6.
- Kuljanabhagavad, T; Wink, M. 2009. Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. Phytochemistry Reviews. 8(2):473-490.
 Consultado el 03 mar. 2018. Disponible en https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-009-9121-0.
- 127. Laffitte, A; Neiers, F; Briand, L. 2017. Characterization of taste compounds: chemical structures and sensory properties en Flavour. From Food to Perception. Oxford, United Kingdon, Wiley. 400 p.
- 128. Larrañaga, IJ; Carballo, JM; Rodríguez, MM; Fernández, JA. 1999. Control e higiene de los alimentos. Madrid, España, McGraw Hill. 544 p.
- 129. Lawless, HT; Heymann, H. 2010. Sensory evaluation of food principles and practices. 2. ed. New York, Estados Unidos de América, Springer. 600 p.
- 130. Lawless, HT; Lee, CB. (ed.) 1993. Common chemical sense in food flavor *In* Flavor science. Sensible principles and techniques. Acree, TE; Teranishi, R.(eds.). Washington D.C., Estados Unidos de América, American Chemical Society. 252 p.
- 131. Lawless, HT. 1980. A comparison of different methods used to assess sensitivity to the taste of phenylthiocarbamide (PTC). Chemical Senses. 5(3):247-56. Consultado el 21 mar. 2018. Disponible enhttps://psycnet.apa.org/record/1981-31747-001.
- 132. Lench, N; Stanier, P; Williamson, R. 1988. Simple non-invasive method to obtain DNA for gene analysis. Lancet.1(8599):1356-1358. Consultado el 14 abr. 2019. Disponible enhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2898042.
- 133. Li, G; Wang, S; Zhu, F. 2016. Physicochemical properties of quinoa starch. Carbohydrate Polymers. 137:328-338. Consultado el 14 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26686137.
- 134. Li, G; y Zhu, F. 2017. Physicochemical properties of quinoa flour as affected by starch interactions. Food Chemistry. 221:1560-1568. Consultado el 06 jul. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27979129.

- 135. Liman, ER; Zhang,YV; Montell, C. 2014. Peripheral coding of taste. Neuron. 81(5):984-1000. Consultado el 06 jul. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3994536/
- 136. Lindeboom, N. 2005. Studies on the characterization, biosynthesis and isolation of starch and protein from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) (en línea). Ph.D. Thesis. Department of Applied Microbiology and Food Science. Saskatoon, University of Saskatchewan, Canada. 152 p. Disponible en https://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk3/SSU/TC-SSU-8152005110823. pdf
- 137. Lindeboom, N; Chang, P; Tyler, R. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: A review. Starch/Stärke. 56(3-):89-99. Consultado el 14 jun. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.200300218.
- 138. Lindeboom, N; Chang, P; Falk, K; Tyler, R. 2005. Characteristics of starch from eight quinoa lines. Cereal Chemistry. 82(2):216-222. Consultado el 06 jul. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1094/CC-82-0216.
- 139. Liu, Q; Charlet, G; Yelle, S; Arul, J. 2002. Phase transition in potato starch—water system I. Starch gelatinization at high moisture level. Food Research International. 35(4):397-407. Consultado el 14 abr. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00134-X.
- 140. Lorenz, K. 1990. Quinoa (*Chenopodium quinoa*) starch Physico-chemical properties and functional characteristics. Starch/Stärke.42(3):81-86. Consultado el 14 abr. 2019. Disponible enhttps://doi.org/10.1002/star.19900420302.
- 141. Lorenz, K. 2006. Physico-chemical properties of lipid-free cereal starches. Journal of Food Science. 41(6):1357-1359. Consultado el 15 ago. 2018. Disponible enhttps://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb01170.x.
- 142. Luallen, T. (ed.) 2004. Utilizing starches in product development en starch in food structure, function and applications. Eliasson, AC (ed.). New York, Estados Unios de América, CRC Press. 597 p.

- 143. Lum, A; Le, ML. 1998. A simple mouthwash method for obtaining genomic DNA in molecular epidemiological studies. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 7(8):719-724. Consultado el 15 ago. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9718225
- 144. Lutz, M; Martínez, A; Martínez, EA. 2013. Daidzein and Genistein contents in seeds of quinoa (*Chenopodiumquinoa* Willd.) from local ecotypes grown in arid Chile. Industrial Crops and Products. 49:117-121. Consultado el 12 may. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.023.
- 145. Luyten, H; van Vliet, T; Walstra, P. 1992. Comparison of various methods to evaluate fracture phenomena in food materials. Journal of Texture Studies. 23(3):245-266. Consultado el 10 de jun. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1992.tb00524.x.
- 146. Martínez-Ruiz, NR; Wall-Medrano, A; Jiménez-Castro, JA; López-Díaz, JA; Angulo-Guerrero, O. 2014. Relación entre el fenotipo PROP, el índice de masa corporal, la circunferencia de cintura, la grasa corporal total y el consumo dietario. Nutr. Hosp. 29(1):173-179. Consultado el 12 may. 2019. Disponible en http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v29n1/23original17.pdf.
- 147. Mastebroek, HD; Limburg, H; Gilles, T; Marvin, HJP. 2000. Occurrence of sapogenins in leaves and seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of the Science of Food and Agriculture. 80(1):152-156. Consultado el 26 may. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000101)80:1<152::AID-JSFA503>3.0.CO;2-P.
- 148. Mattes, RD. 2011. Accumulating evidence supports a taste component for free fatty acids in humans. Physiology & Behavior. 104(4):624-631. Consultado el 03 mar. 2018. Disponible enhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21557960.
- 149. Meilgaard, M; Civille, GV; Carr, BT. 2015. Sensory evaluation techniques. 5. ed.Boca Raton, Fl, Estados Unidos de América. 600 p.
- 150. Mendez-Montealvo, G; Solorza-Feria, J; Velásquez del Valle, M; Gómez-Montiel N; Paredes-López, O; Bello-Pérez, LA. 2005. Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en

- México. Revista Agrociencia. 39(3):267-274. Consultado el 26 may. 2019. Disponible en http://www.redalyc.org:9081/articulo.oa?id=30239303.
- 151. Meulenbelt, I; Droog, S; Trommelen, GJ; Boomsma, DI; Slagboom,PE. 1995. High-yield noninvasive human genomic DNA isolation method for genetic studies in geographically dispersed families and populations. American Journal of Human Genetics. 57(5):1252-1254. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible enhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1801361/.
- 152. Meyerhof, W; Batram, C; Kuhn, C; Brockhoff, A; Chudoba, E; Bufe, B; Appendino, G; Behrens, M.2010. The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. Chemical Senses. 35(2):157-170. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20022913.
- 153. MINAGRI. (Ministerio Nacional de Agricultura). 2014. Notas de prensa. (en línea) Consultado el 01 Jun. 2017. Disponible en http://www.minag.gob.pe/portal/notas-de-prensa/notas-de-prensa-2014/10724-ministro-juan-manuel-benites-la-p roduccion-de-quinua-superara-las-60-000-toneladas-este-ano.
- 154. MINAGRI. (Ministerio Nacional de Agricultura). 2015. Notas de prensa. (en línea) Consultado el 17 Jun. 2015. Disponible en http://www.minagri.gob.pe/portal/publicaciones-y-prensa/12595-la-produccion-dequinua-crece-en-135-e-impulsa-el-agro-en-primer-trimestre-del-ano.
- 155. MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2017. La quinua: produccion y comercio del Perú. Lima, Perú, MINAGRI. 8 p. (Perfil Técnico, no. 2).
- 156. MINSA (Ministerio de Salud). 2008. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. Lima, Perú. 27 ago. 23 p. (en línea). Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM59 1MINSANORMA.pdf.
- 157. Miranda, M; Vega-Gálvez, A; Martínez, EA; López, J; Marín, R; Aranda, M; Fuentes F. 2013. Influence of contrasting environments on seed composition of two quinoa genotypes: nutritional and functional properties. Chilean Journal of

- Agricultural Research. 73(2): 108-116. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000200004.
- 158. Mishra, S; Rai, T. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. Food Hydrocolloids. 20(5):557-566. Consultado el 26 feb. 2018. Disponible enhttps://doi.org/10.1080/10942912.2015.1042112.
- 159. Moheno-Perez, JA; Almeida-Dominguez, HD; Serna-Saldivar, SO.1997.Effect of fiber degrading enzymes on wet milling and starch properties of different types of sorghums and maize.Starch / Stärke.49(12):480-484. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible enhttps://doi.org/10.1002/star.19970491203.
- 160. Monje, YA; Raffaillac, JP. 2006. Determinación de saponina total en quinua (Chenopodium quinua Willd.) método espectrofotométrico. In Memoria IV Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Protección Vegetal. Oruro, 5 al 7 de abril de 2006. C.E.A.C. Dpto. Fitotecnia-FCAPV-UTO. ABPV. Oruro, Bolivia. Asociación Boliviana de Protección Vegetal. 217p.
- Montgomery, D. 2002. Diseño y análisis de experimentos. 2. ed. México, D.F.,
 México, Limusa. 686 p.
- 162. Montgomery, D. 2010. Control estadístico de la calidad. 3. ed. México, D,F,, México, Limusa-Wiley. 797 p.
- Moorthy, SN. 2002. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: A Review. Starch/Stärke. 54(12):559–592. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/1521-379X(200212)54:12<559::AID-STAR2222559>3.0.CO;2-F.
- 164. Morris, CF; 2002. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. Plant Molecular Biology.48(5-6):633-647. Consultado el 15 jul. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11999840.
- 165. Morrison, W; Scott, D; Karkalas, J. 1986. Variation in the composition and physical properties of barley starches. Starch/Stärke. 38(11):374-379. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible enhttps://doi.org/10.1002/star.19860381104.
- 166. Morrison, WR. 1995. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. Cereal Foods World. 40: 437-446.

- 167. Mota, C; Santos, M; Mauro, R; Samman, N; Matos, AS; Torres, D; Castanheira, I. 2016. Protein content and amino acids profile of pseudocereal. Food Chemistry. 193(55): 55-61. Consultado el 24 jun. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26433287.
- 168. Mujica, A; Jacobsen, S; Izquierdo, J; Marathee JP. 2001. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) ancestral cultivo andino alimento del presente y futuro. (en línea). Santiago, Chile. Consultado el 16 de May. 2016. Disponible en http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/home03.htm.
- 169. Mujica, A; Ortiz, R; Bonifacio, A; Saravia, R; Corredor, G; Romero, A. y Jacobsen, S. 2006. Agroindustria de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en los países andinos. Proyecto Quinua: cultivo multipropósito para los países andinos INT/01/K01 Perú-Colombia-Bolivia. Puno, Perú, Editorial El Altiplano.p. 449-457.
- 170. Mulot, C; Stucker I; Clavel, J; Beaune, P; Loriot, MA. 2005. Collection of human genomic DNA from buccal cells for genetics studies: comparison between cytobrush, mouthwash, and treated card. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 3:291-296. Consultado el 15 jul. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16192688.
- 171. Mundigler, N. 1998. Isolation and determination of starch from amaranth (*Amaranthus cruentus*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*). Starch/Stärke. 50(2-3): 67-69. 02 ago. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199803)50:2/3<67::AID-STAR67>3.0.CO;2-R
- 172. Nascimento, AC; Mota, C; Coelho, I; Gueifão, S; Santos, M; Matos, AS; Gimenez, A; Lobo, M; Samman, N; Castanheira, I. 2014. Characterization of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. Food Chemistry. 148:420-426. Consultado el 11 de ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24262578.
- 173. Navruz, SN; Şanlier, N. 2016. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodiumquinoa* Willd.). Journal of Cereal Science. 69:371-376. Consultado el 02 ago. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.004

- 174. Nowak, V; Du, J; Charrondiére, UR. 2016. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Chemistry. 193:47-54. Consultado el 15 jul. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.111.
- 175. Ogungbenle, H. 2003. Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (Chenopodium quinoa) flour.International Journal of Food Sciences and Nutrition. 54(2):153-158. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12701372
- 176. Ogungbenle, H; Oshodi, A; Oladimeji, M. 2009. The proximate and effect of salt applications on some functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour. Pakistan Journal Nutrition. 8(1):49-52. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012053692.
- 177. Orrú, R; Atzori, E; Padiglia, A. 2015. Development of a molecular method for the rapid screening and identification of the three functionally relevant polymorphisms in the human TAS2R38 receptor gene in studies of sensitivity to the bitter taste of PROP. SpringerPlus 4:246. Consultado el dia 15 jul. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26090297.
- 178. Oshodi, A; Ogungbenle, H; Oladimeji, M. 1999. Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed, pearl millet and quinoa flours. Int. J. Food Sci. Nutr. 50(5):325-331. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10719563.
- 179. Pedrero, DL; Pangborn, RM. 1996. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Mexico, México, Alhambra Mexicana. 251p.
- 180. Pérez, S; Bertoft, E. 2010. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. Starch/Stärke. 62(8):389-420. Consultado el 24 jun. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.201000013.
- 181. Praznik, W; Mundigler, N; Kogler, A; Pelzl, B; Huber, A. 1999. Molecular background of technological properties of selected starches. Starch/Stärke. 51(6):197-211. Consultado el 23 jun. 2019. Disponible en

- https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-79X(199906)51:6<197::AIDSTAR197>3.0.CO ;2-K
- 182. Prieto, L. 2002. Estudio de polimorfismos de ADN en restos humanos antiguos y muestras forenses críticas: Valoración de estratégias y resultados. Memoria para optar al grado de doctor (en línea). Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Antropología. 218 p. Consultado el 02 ago. 2019. Disponible en https://eprints.ucm.es/4594/.
- 183. Promega Corporation. 2014. Wizard® Genomic DNA Purification Kit. Technical Manual. Instructions for Use of Products A1120, A1123, A1125 and A1620. Revised 12/14 (en línea). Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://ita.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/0/wizard-genomic-dna-purification-kit-protocol.pdf.
- 184. Pycia, K; Gęsiński, K; Jaworska, G. y Barczak, B. 2019 Comparative analysis of selected physicochemical properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), maize, wheat and potato starch. Journal of Central European Agriculture. 20(2):626-635. Consultado el 11 ene. 2019. Disponible en https://jcea.agr.hr/en/issues/article/2134
- 185. Ramos, A. 2014. Extração e caracterização de amido de quinoa, cañihua e *Mirabilis jalapa*. Tese de doutorado. São José do Rio Preto, Sao Paulo, Brasil, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filhio", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Câmpus de São José do Rio Preto. 175 p. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://repositorio.unesp.br/handle/11449/128118.
- 186. Qian, J; Kuhn, M. 1999. Characterization of *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* Starch. Starch/Stärke. 51(4):116-120. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199904)51:4<116::AID-STAR116>3.0.CO;2-R
- 187. Quinde, Z; Ullrich, SE; Baik, BK. 2004. Genotypic variation in colour and discolouration potential of barley based food products. Cereal Chemistry. 81(6):52-758. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.6.752.

- 188. Ranhotra, GS; Gelroth, JA; Glaser, BK; Lorenz, KJ; Johnson, DL. 1993. Composition and protein nutritional quality of quinoa. Cereal Chemitry. 70(3):303-305.
- 189. Rasmussen, HB. (ed). 2012. Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments (PCR-RFLP) and gel electrophoresis – Valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting en Gel electrophoresis - Principles and basics (en línea). Edited by Magdeldin, S. London, United Kingdom, InTechOpen 376 p. DOI: 10.5772/37724. Consultado el 28 2018. Disponible ago. en https://www.intechopen.com/books/gel-electrophoresis-principles-and-basics/ restriction-fragment-length-polymorphism-analysis-of-pcr-amplified-fragmentspcr-rflp-and-related-te.
- 190. Reed, DR; Tanaka, T; McDaniel, AH. 2006. Diverse tastes: Genetics of sweet and bitter perception, Physiology & Behavior.88(3):215-226. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16782140.
- 191. Reed, DR; Bartoshuk, LM; Duffy, V; Marino, S; Price, A. 1995. Propylthiouracil tasting: determination of underlying threshold distributions using maximum likelihood. Chemical Senses. 20(5):529-533. Consultado el 24 jun. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8564427.
- 192. Repo-Carrasco R. 2011. Andean indigenous food crops: nutritional value and bioactive compounds. Turku, Finland, University of Turku, Department of Biochemistry and Food Chemistry. 176 p.
- 193. Repo-Carrasco, R; Espinoza, C; Jacobsen, SE. 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). Food Reviews International. 19(1-2):179-189.
- 194. Repo-Carrasco, R; Hellström, JK; Pihlava, JM; Mattila, PH. 2010. Flavonoids and other phenoliccompounds in Andean indigenous grains: quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chemistry 120(1): 128-133.

- 195. Repo-Carrasco-Valencia, RAM.; Astuhuaman-Serna, L. 2011. Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31(1): 225-230.
- 196. Rogers, NL; Cole, SA; Lan, HC; Crossa, A; Demerath, EW. 2007. New saliva DNA collection method compared to buccal cell collection techniques for epidemiological studies. American Journal of Human Biology. 19(3): 319-326. Consultado el 01 Jun. 2017. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17421001
- 197. Rojas, W; Pinto, M; Alanoca, C; Gómez, L. *et al.* (ed.) 2014. Estado de la conservación ex situ de los recursos genéticos de Quinua en Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013 (en línea). Santiago, Chile, FAO.712 p. Consultado el 18 ago. 2018. Disponible en https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Esta do_de_la_conservacion_ex_situ_de_los_recursos_geneticos_de_Quinua_1829.pdf
- 198. Ruales, J; Nair, B. 1993. Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. Plant Foods for Human Nutrition. 42(1):1-12. Consultado el 11 ene. 2017. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1546052.
- 199. Ruales, J; Valencia, S; Nair, B. 1993. Effect of processing on the physico-chemical characteristics of quinoa flour (*Chenopodium quinoa* Willd.). Starch/Stärke. 45(1):13-19. Consultado el 11 ene. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.19930450105.
- 200. Ruales, J; Nair, B M. 1994a. Effect of processing on in vitro digestibility of protein and starch in quinoa seeds. International Journal of Food Science Technology. 29(4):449-456. Consultado el 29 jul. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02086.x
- 201. Ruales, J, Nair, B. 1994b. Properties of starch and dietary fibre in raw and processed quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds. Plant Foods for Human Nutrition. 45(3):223-246. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://link.springer.com/article/10.1007/BF01094092.

- 202. Sambrook, J; Fritsch, EF; Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Estados Unidos de América.144 p.
- 203. Sancho, J; Bota, E; de Castro, JJ. 2002. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. México, D.F., México, Editorial Alfaomega Grupo Editor. 336 p.
- 204. SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria). 2014. Informe del monitoreo de residuos químicos y otros contaminantes en granos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Lima, Perú, SENASA, Subdirección de Inocuidad Agroalimentaria. 28 p.
- 205. Siegel, S; Castellan, NJ. 1995. Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. 4. ed. México, D.F., México, Trillas. 437p.
- 206. Singh, N; Singh, P. 2011. Amaranth: potential source for flour enrichment, in flour and breads and their fortification in health and disease prevention (eds. V.R. Preedy R. R. Watson and V.B. Pater). Frisco, Colorado, Elsevier Inc., Estados Unidos de América. 102 p.
- 207. Singh, N; Singh, J; Kaur, L; Sodhi, N; Gill B. 2003. Morphological, thermal and reological properties of starches from different botanical sources. Food Chemistry. 81(2):219-231. Consultado el 01 jun. 2017. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00416-8.
- 208. Slattery, C; Kavakli, I; Okita, T. 2000. Engineering starch for increased quantity and quality. Trends in Plant Science. 5(7):291-298.Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01657-5
- Sparg, SG; Light, ME; Van Staden, J. 2004. Review. Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology. 94(2-3):219-243.
 Consultado el 01 jun. 2017. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15325725.
- 210. Steffolani, ME; León, AE; Pérez, GT. 2013. Study of the physicochemical and functional characterization of quinoa and kañihua starches. Starch/Stärke.65(11-12): 976-983. Consultado el 14 jun. 2029. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.201200286

- 211. Stone, H; Bleibaum, RN; Thomas, HA.2012. Sensory evaluation practices. 4. Ed. Cambridge, United Kingdom, Elsevier. 438 p.
- 212. Stuardo, M; San Martin, R. 2008. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) alkali treated saponins against botrytis cinérea. Industrial Crops and Products. 27(3):296-302. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.11.003.
- 213. Tamay de Dios, L; Ibarra, C; Velasquillo, C. 2013. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real (en línea). Investigación en Discapacidad. 2(2):70-78. Consultado el 18 may. 2019. Disponible en https://biblat.unam.mx/es/revista/investigacion-en- discapacidad/articulo/ fundamentos-de-la-reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa-pcr-y-de-la-pcr-entiempo-real.
- 214. Tang, H; Watanabe, K; Mitsunaga, T. 2002. Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. Carbohydrate Polymers. 49(1):13-22. Consultado el 18 may. 2019. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/223763969_Characterization_of_storage_starches_from_quinoa_barley_and_adzuki_seeds.
- 215. Tapia, M. 1997. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. 2. ed. Santiago, Chile, FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. 273 p.
- 216. Tari, T; Annapure, U; Singhal, R; Kulkarni, P. 2003. Starch-based spherical aggregates: Screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound, vanillin. Carbohydrate Polymers. 53(1):45-51. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/229254251_Starch-based_spherical_aggregates_Screening_of_small_granule_sized_starches_for_entrapment_of_a_model_flavouring_compound_vanillin
- 217. Tepper, BJ. 1998.6-n-Propylthiouracil: a genetic marker for taste, with implications for food preference and dietary habits. American Journal of Human Genetics. 63(5):1271-1276. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1377537/.

- 218. Tepper, BJ; Christensen, CM; Cao, J. 2001. Development of brief methods to classify individuals by PROP taster status. Physiology & Behavior. 73(4):571-577. Consultado el 27 ago. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11495661.
- 219. Tester, R; Karkalas, J. 1996. Swelling and gelatinization of oat starches (en línea). Cereal Chemistry. 73(2):271-277. Consultado el 27 ago. 2019. Disponible en https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1996/Documents/73_271. pdf.
- 220. Tester, RF; Karkalas, J; Qi, X. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. Journal of Cereal Science. 39(2):151-165. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001.
- 221. Tester, RF; Morrison, WR. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. Cereal Chemistry. 67(6):551-557. Consultado el 14 jun. 2018. Disponible en https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1990/documents/67_551. pdf.
- Tian, SJ; Rickard, JE; Blanshard, JM. 1991. Physicochemical properties of sweet potato starch. Journal of the Science of Food and Agriculture. 57(4): 451-491.
 Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1002/jsfa.2740570402.
- 223. Troisi, R; Di Fiore, R; Pulvento, C; D'Andria, R. (ed.). 2014. Saponinas en estado del arte de la quinua en el mundo en 2013. Santiago, Chile, FAO. 712 p.
- 224. Tukomane, T; Varavinit, S. 2008. Classification of rice starch amylose content from rheological changes of starch paste after cold recrystallization. Starch/Stärke. 60(6):292-297. Consultado el 01 jun. 2017. Disponible en https://doi.org/10.1002/star.200700672.
- 225. Upadhyaya, J; Singh, N; Bhullar, R; Chelikani, P. (eds.) 2017. Biochemistry of human bitter taste receptors en bitterness: perception, chemistry and food processing, Oxford, United Kingdom, Wiley, The Institute of Food Technologists. 237 p.

- 226. USDA. ARS(U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service). USDA national nutrient database for standard reference 2005. Bethesda, Maryland, Estados Unidos de América. Release 18. Consultado el 01 jun. 2017. Disponible en http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp.
- 227. Van der Heijden, A. (ed.) 1993. Sweet and bitter tastes en flavor science. Sensible principles and techniques. Washington, D.C., Estados Unidos de América. American Chemical Society. 252 p.
- Vega-Gálvez, A;Miranda, M; Vergara, J; Uribe, E; Puente, L; Martínez EA.2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90(15):2541-2547. Consultado el 11 ene. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20814881.
- 229. Wang, L; Xie, B; Shi, J; Xue, S. et al. 2010. Physicochemical properties and structure of starches from Chinese rice cultivars. Food Hydrocolloids. 24(2):208-16. Consultado el 28 ago. 2018. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/248425101_Physicochemical_properties_and_structure_of_starches_from_Chinese_rice_cultivars.
- 230. Wang, S; Opassathavorn, A; Zhu, A. 2015. Influence of quinoa flour on quality characteristics of cookie, bread and Chinese steamed bread. Journal of Texture Studies. 46(4):281-292. Consultado el 02 abr. 2019. Disponible en https://doi.org/10.1111/jtxs.12128.
- 231. Wang, Y;Liu, W; Sun, Z. 2003. Effects of granule size and shape on morphology and tensile properties of LDPE and starch blends. Journal of Materials Science Letters. 22(1):57-59. Consultado el 01 Jun. 2017. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/226726061_Effects_of_granule_size_and _shape_on_morphology_and_tensile_properties_of_LDPE_and_starch_blends.
- 232. Wani, AA; Singh, P; Shah, MA; Schweiggert-Weisz, U. et al. 2012. Rice starch diversity: effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 11(5):417-436. Consultado el 12 nov. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00193.x.

- 233. Watanabe, K; Peng, NL; Tang, H; Mitsunaga, T. 2007. Molecular structural characteristics of quinua starch. Food Science and Technology Ressearch. 13(1):73-76. Consultado el 01 jun. 2017 Disponible en https://www.researchgate.net/publication/250193529_Molecular_Structural_Characteristics_of_Quinoa_Starch
- 234. Watts, BM; Ylimaki, GL; Jeffery, LE; Elias, LG. 1992. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Ottawa, Canadá, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID). 170 p.
- 235. Weier, HU; Gray, JW. 1988. A programmable system to perform the polymerase chain reaction. DNA. 7(6):441-447. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3203600.
- 236. Wilson, H. 1988. Quinua biosystematics. I: Domesticated populations. Economic Botany. 42(4):461-477. Consultado el 02 ago. 2019. Disponible en https://link.springer.com/article/10.1007/BF02862791.
- 237. Witt, M; Reutter, K. (eds.) 2015. Anatomy of the yongue and taste buds en handbook of olfaction and gustation, 3. ed.Oxford, United Kingdom, Wiley. 1732 p.
- 238. Wittig, E. 2001. Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos (en línea). Consultado el 28 jul. 2017 Disponible en http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/wittinge01/.
- 239. Woldemichael, G; Wink, M. 2001. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from chenopodium quinoa. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49(5):2327-2332. Consultado el 01 Jun. 2017. Disponible en https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0013499.
- 240. Wooding, S; Kim, UK; Bamshad, MJ; Larsen, J; Jorde, LB; Drayna, D.2004. Natural selection and molecular evolution in PTC, a bitter-taste receptor gene. American Journal of Human Genetics. 74(4):637-646. Consultado el 02 ago. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14997422.

- 241. Wright, KH; Pike, OA; Fairbanks, DJ; Huber, CS. 2002. Composition of *Atriplex hortensis*, sweet and bitter *Chenopodium quinoa seeds*. Journal of Food Science. 67(4):1383-1385. Consultado el 01 jun. 2017. Disponible en https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10294.x.
- 242. Wu, G; Morris, CF; Murphy, KM. 2017. Quinoa starch characteristics and their correlations with the texture profile analysis (TPA) of cooked quinoa. Journal of Food Science. 82(10):2387-2395. Consultado el 11 nov. 2018. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28869289.
- 243. Yarmolinsky, DA; Zuker, CS; Ryba, NJ. 2009. Common sense about taste: from mammals to insects. Cell. 139(2):234-244. Consultado el 02 ago. 2019. Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19837029.
- 244. Youa, S; Izydorczyk, M. 2007. Comparison of the physicochemical properties of barley starches after partial a-amylolysis and acid/alcohol hydrolysis. Carbohydrate Polymers. 69(3):489-502. Consultado el 15 ago. 2018. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.002.
- 245. Zhu, N; Sheng, S; Sang, S; Jhoo, JW;Bai, N; Karwe, MV; Rosen, RT; Ho, CT. 2002. Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. Agricultural and Food Chemistry. 50(4):865-867. Consultado el 01 Jun. 2017. Disponible en https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0110021.

ANEXO 1

CANDIDATOS SELECCIONADOS PARA LA CONFORMACIÓN DEL PANEL DE JUECES ENTRENADOS

N°	Designación	Sexo	Edad (Años)	Condición Profesional o Universitaria
1	Juez 1	M	25	Estudiante (10mo ciclo)
2	Juez 2	F	28	Técnica de Laboratorio FIAL
3	Juez 3	M	21	Estudiante (10mo ciclo)
4	Juez 4	F	23	Estudiante (10mo ciclo)
5	Juez 5	F	21	Estudiante (10mvo ciclo)
6	Juez 6	F	37	Docente de la Facultad de Ciencias
7	Juez 7	M	21	Estudiante (10mo ciclo)

M: Masculino

F. Femenino FIAL: Facultad de Industrias Alimentarias

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE IDENTIFICACIÓN

1. Tipo de muestras (sustancias sápidas) y esquema de distribución para la evaluación

N°	Sensación	Soluto	Muestras	Esquema distribución
Sesión	gustativa	Soluto	Concentración (g/l)	(Izquierda a derecha)
			C1 = 0,005; C2 = 0,01; C3 = 0,015	1° 2° 3° 4° 5° C ₁₂ C ₁₁ C ₁₀ C ₉ C ₈
1	Amargo	Cafeína monohi-	$C_4 = 0.02; C_5 = 0.03; C_6 = 0.04$	6° 7° 8° 9° 10°
	7 margo	dratada	$C_7 = 0.45$; $C_8 = 0.05$; $C_9 = 0.06$	C_7 C_6 C_5 C_4 C_3
			$C_{10} = 0.07; C_{11} = 0.08; C_{12} = 0.1$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
			$C_1 = 0,005; C_2 = 0,01; C_3 = 0,02$	1° 2° 3° 4° 5° C ₁₂ C ₁₁ C ₁₀ C ₉ C ₈
2	Astringente	Ácido	$C_4 = 0.03; C_5 = 0.04; C_6 = 0.05$	6° 7° 8° 9° 10°
2	Astringente	tánico	$C_7 = 0.06; C_8 = 0.08; C_9 = 0.09$	C ₇ C ₆ C ₅ C ₄ C ₃
			$C_{10} = 0,1; C_{11} = 0,15; C_{12} = 0,2$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
			$C_1 = 0.005; C_2 = 0.01; C_3 = 0.015$	1° 2° 3° 4° 5° C ₁₂ C ₁₁ C ₁₀ C ₉ C ₈
3	Amaraa	Saponina	$C_4 = 0.03; C_5 = 0.04; C_6 = 0.05$	6° 7° 8° 9° 10°
3	Amargo	química	$C_7 = 0.06$; $C_8 = 0.08$; $C_9 = 0.1$	C ₇ C ₆ C ₅ C ₄ C ₃
			$C_{10} = 0.2$; $C_{11} = 0.3$; $C_{12} = 0.4$	11° 12° C ₂ C ₁
		D.1 . 1.	$C_1 = 0.05; C_2 = 0.06; C_3 = 0.08$	1° 2° 3° 4° 5°
4	Amargo	Polvo de saponina de	$C_4 = 0.1; C_5 = 0.2; C_6 = 0.3$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
7	Amargo	quinua escarificada	$C_7 = 0.4$; $C_8 = 0.5$; $C_9 = 0.7$	6° 7° 8° 9° 10°
		oscarificada	$C_{10} = 0.8$	C ₅ C ₄ C ₃ C ₂ C ₁
			En base a la concentración de	
		Comments.	saponinas (%) en los granos $C_1 = 0.00$; $C_2 = 0.09$; $C_3 = 0.08$	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
5	Amargo	Granos de quinua	$C_4 = 0.15; C_5 = 0.21; C_6 = 0.25$	6° 7° 8° 9° 10°
			$C_7 = 0.42; C_8 = 0.44; C_9 = 0.52$	C_5 C_4 C_3 C_2 C_1
			$C_{10} = 0,62$	

Se distribuyó 40 ml de cada muestra, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. El orden de distribución de las muestras fue el mismo para todos los jueces sensoriales a fin de asegurar que la comparación de sus actuaciones no fuera influenciada por el orden distinto de presentación.

En el caso de la determinación del umbral con las muestras de granos de quinua, se distribuyó un (01) gramo de granos de quinua en vasitos de plásticos descartables, identificados con números aleatorios de 3 dígitos. Asimismo, por cada muestra se entregó una cucharita de plástico descartable para facilitar la evaluación. El formato de evaluación empleado fue el correspondiente a: Determinación del umbral de identificación en granos de quinua.

2. Formatos de evaluación

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE IDENTIFICACIÓN

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

En los doce (12) vasos hay sustancias con sabor amargo. Por favor pruebe las muestras, empezando por el vaso 1, e indique el número de vaso hasta el cual todavía percibe el sabor amargo (•).

N° DE VASO	CÓDIGO MUESTRA	SABOR IDENTIFICADO
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

Observaciones:		
		_

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE IDENTIFICACIÓN EN GRANOS DE QUINUA

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

En los diez (10) vasos hay muestras de granos de quinua. Por favor pruebe las muestras, empezando por el vaso 1, e indique el número de vaso hasta el cual ya no percibe diferencia con la muestra siguiente, en cuanto al sabor amargo (•).

N° DE VASO	CÓDIGO MUESTRA	SABOR IDENTIFICADO
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

Observaciones:		

Muy agradecidos por su participación!

PRUEBA DE EMPAREJAMIENTO

1. Tipo de muestras y esquema de distribución para la evaluación

1.1 En base a sustancias sápidas de gustos básicos

N°	Sensación gustativa	Soluto	Concentración (g/l)	Esquema distribución (Izquierda a derecha)
1	Amargo	Cafeína monohidratada	$C_1 = 0.5$	
2	Ácido	Ácido cítrico monohidratado	$C_2 = 1,0$	1° 2° 3° 4° 5°
3	Salado	Cloruro de sodio anhidro	$C_3 = 5.0$	C_4 C_5 C_2 C_1 C_3
4	Dulce	Sacarosa	$C_4 = 16,0$	6° 7° 8° 9° 10°
5	Umami	Glutamato monosódico monohidratado	$C_5 = 0,595$	C_1 C_3 C_2 C_6 C_4
6	Metálico	Sulfato de hierro (II) heptahidratado	$C_6 = 0,010$	

1.2 En base a sustancias sápidas relacionadas al gusto amargo

N°	Sensación gustativa	Soluto	Concentración (g/l)	Esquema distribución (Izquierda a derecha)
1	Amargo	Cafeína monohidratada	$C_1 = 0.5$	
2	Astringente	Ácido tánico	$C_2 = 1,0$	1° 2° 3° 4° 5°
3	Amargo	Saponina química	$C_3 = 0.8$	C_1 C_3 C_1 C_2 C_3
4	Amargo Astringente (Mezcla 1)	Saponina química y Ácido tánico	$C_4 = 0.4 + 0.25$	6° 7° 8° 9° C ₂ C ₅ C ₄ C ₄
5	Amargo (Mezcla 2)	Saponina química y cafeína	$C_5 = 0.4 + 0.5$	

Se distribuyó 40 ml de cada muestra, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. El orden aleatorio de distribución de las muestras fue el mismo para todos los jueces sensoriales a fin de asegurar que la comparación de sus actuaciones no fuera influenciada por el orden distinto de presentación.

2. Formato de evaluación

PRUEBA DE EMPAREJAMIENTO

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

Pruebe las muestras en el orden indicado y evalúe en cuanto al sabor. Empareje las muestras que presentan el mismo sabor.

No olvide enjuáguese la cavidad bucal entre muestra y muestra.

CÓDIGO MUESTRA	SABOR IDENTIFICADO

SABOR IDENTIFICADO	CÓDIGO MUESTRA		
	Muestra 1	Muestra 2	
·			

Observaciones:			

© Muy agradecidos por su participación!

PRUEBA DE COMPARACIÓN POR PAREJAS

1. Tipo de muestras (sustancias sápidas) y esquema de distribución para la evaluación

Sensación	G-14-			Esquema	
gustativa	Soluto			distribución	
				(Izquierda a derecha)	
				C_2 C_1	
Amargo	Saponina química			C_1 C_2	
				C_2 C_1	
				C_1 C_2	
Amargo	Saponina química			C_2 C_1	
		$C_1 = 2,8$	$C_2 = 3,0$	C_1 C_2	
		$C_1 = 6.8$	$C_2 = 7,0$	C_2 C_1	
Amargo	Saponina química	$C_1 = 6.8$	$C_2 = 7,0$	C_2 C_1	
		$C_1 = 6.8$	$C_2 = 7,0$	C_1 C_2	
	Cafaína	$C_1 = 0,2$	$C_2 = 0,3$	C_2 C_1	
Amargo	monohidratada	$C_1 = 0,2$	$C_2 = 0,3$	C_1 C_2	
		$C_1 = 0,2$	$C_2 = 0,3$	C_2 C_1	
	Co Co Co	$C_1 = 0,5$	$C_2 = 0.6$	C_1 C_2	
Amargo		$C_1 = 0,5$	$C_2 = 0.6$	C_2 C_1	
	monomaratada	$C_1 = 0,5$	$C_2 = 0.6$	C_1 C_2	
	C C /	$C_1 = 0.9$	$C_2 = 0,1$	C_2 C_1	
Amargo				C_2 C_1	
	monohidratada			C_1 C_2	
				C_2 C_1	
Astringente	Ácido tánico			C_1 C_2	
				C_2 C_1	
				C_1 C_2	
Astringente	Ácido tánico			C_2 C_1	
				C_1 C_2	
				C_2 C_1	
Astringente	Ácido tánico			C_2 C_1	
				C_1 C_2	
	Amargo Amargo Amargo Amargo Amargo	Amargo Saponina química Amargo Saponina química Amargo Saponina química Amargo Saponina química Cafeína monohidratada Amargo Cafeína monohidratada Amargo Cafeína monohidratada Astringente Ácido tánico Astringente Ácido tánico	Sensación gustativa Soluto Concentr Muestra 1 Amargo Saponina química $C_1 = 0,1$ Amargo Saponina química $C_1 = 0,1$ Amargo Saponina química $C_1 = 2,8$ Amargo Saponina química $C_1 = 2,8$ Amargo Saponina química $C_1 = 6,8$ Cafeína monohidratada $C_1 = 6,8$ Cafeína monohidratada $C_1 = 0,2$ Cafeína monohidratada $C_1 = 0,5$ Cagons $C_1 = 0,5$ Cagons $C_1 = 0,6$ Cagons $C_1 = 0,6$ Cagons $C_1 = 0,6$ Cagons $C_1 = 0,6$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	

Se distribuyó 40 ml de cada muestra, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. El orden de distribución de las muestras fue el mismo para todos los jueces sensoriales a fin de asegurar que la comparación de sus actuaciones no fuera influenciada por el orden distinto de presentación.

2. Formato de evaluación

PRUEBA DE COMPARACIÓN POR PAREJAS

			Ficha:	
Nombres y Apellidos:			Fecha:	
			Hora:	
Indicaciones:				
Evaluar cada par de muestras, de izqu parejas que son diferentes, colocando cavidad bucal entre muestras.				
Código Código Muestra Muestra Muestra	Código Muestra	Código Muestra		Código Muestra
Observaciones:				

[©] Muy agradecidos por su participación!

PRUEBA TRIANGULAR

1. Tipo de muestras y esquema de distribución para la evaluación en el entrenamiento

N° Sociém	Sensación	Soluto Concentración (g/l)		Esq distribu	uema ción c								
Sesión	gustativa		Muestra 1	Muestra 2	(Izquier	da a d	lerecha)						
1	A mana a	Polvo de saponina	C - 0.5	C - 10	C_2	\mathbf{C}_1	C_2						
1	Amargo	de quinua escarificada	$C_1 = 0.5$	$= 0.5$ $C_2 = 1.0$	C_2	C_2	C_1						
2	Amaraa	Polvo de saponina	C 20	C = 2.0	C = 2.0	C = 2.0	C = 2.0	C = 2.0	C = 2.0	$C_2 = 4.0$	C_1	\mathbf{C}_1	C_2
2	2 Amargo de quinua $C_1 = 3,0$ $C_2 = 4,0$ escarificada	$C_2 = 4,0$	C_2	\mathbf{C}_1	C_1								
2	A	Polvo de saponina	C 70	C 9.0	C_1	C_2	C_1						
3 A	Amargo	de quinua escarificada	$C_1 = 7,0$	$C_2 = 8,0$	C_1	C_2	C_2						

N° Sesión	Sensación gustativa	Muestra	Par de muestras en base a la concentración de saponinas (%) en los granos		Esquema de distribución de series (Izquierda a derecha)
1	Amargo	Granos de quinua	$C_1 = 0.00$	$C_2 = 0.09$	C_2 C_1 C_2
	_	•			C_2 C_2 C_1
2	Amargo	Granos de quinua	$C_1 = 0.21$	$C_2 = 0.25$	C_1 C_1 C_2
2	Amargo	Oranos de quinda	$C_1 = 0,21$	$C_2 = 0,23$	C_2 C_1 C_1
2	Amanaa	Casas de quinue	C = 0.62 $C = 0.52$		C_1 C_2 C_1
2	Amargo	Granos de quinua	$C_1 = 0,62$	$C_2 = 0,52$	C_1 C_2 C_2

2. Tipo de muestras y esquema de distribución para la evaluación en el entrenamiento final y en la evaluación del desempeño

N° Sesión	Sensación gustativa	Muestras de referencia con diferente nivel de saponinas	Granos de par de muestras de referencia (% saponina)		Esq distribud (Izquiero		le series
1	Amargo	Granos de quinua (Bajo nivel)	$C_1 = 0.14$	$C_2 = 0,48$	C_2 C_2	C ₁	C ₂
2	Amargo	Granos de quinua	$C_1 = 0,57$	$C_2 = 0.75$	C_1 C_2	C ₁	C_2
2	Amargo	Granos de quinua (Nivel alto)	$C_1 = 2,78$	$C_2 = 3,79$	C_1 C_1	C ₂	C ₁

Se distribuyó 40 ml de cada muestra, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. El orden aleatorio de distribución de las muestras fue el mismo para todos los candidatos a fin de asegurar que la comparación de sus actuaciones no fuera influenciada por el orden distinto de presentación.

Cabe señalar que la distribución de las muestras se realizó empleando el arreglo balanceado de seis permutaciones de la muestra diferente, para la evaluación de izquierda a derecha: ABB, BAB, BBA, BAA, ABA, AAB.

3. Formato de evaluación

PRUEBA TRIANGULAR

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

En cada serie usted evaluará tres muestras, dos de ellas son idénticas. Pruebe las muestras en el orden indicado e identifique la muestra que es diferente en cuanto al sabor.

N° Serie	igos Mue erda a De	Código Muestra Diferente
1		
2		

Observaciones:		

PRUEBA DE ORDENAMIENTO

1. Tipo de muestras y esquema de distribución para la evaluación en el entrenamiento

N°	Sensación	Soluto o	Muestras	Esquema distribución
Sesión	gustativa	Muestra	Concentración (g/l)	(Izquierda a derecha)
		Polvo de	$C_1 = 0.05; C_2 = 0.8; C_3 = 1.0$	1° 2° 3° 4° 5° C ₂ C ₁ C ₃ C ₅ C ₄
1	Amargo	saponina de quinua	$C_4 = 2.0; C_5 = 3.0; C_6 = 4.0$	6° 7° 8° 9°
		escarificada	$C_7 = 5.0$; $C_8 = 7.0$; $C_9 = 8.0$	C_6 C_8 C_9 C_7
2	Amargo	Granos de	En base a la concentración de saponinas (%) en los granos $C_1 = 0$; $C_2 = 0.08$; $C_3 = 0.15$	1° 2° 3° 4° 5° C ₂ C ₁ C ₃ C ₅ C ₄
2	7 margo	quinua	$C_4 = 0.21; C_5 = 0.25; C_6 = 0.42$	6° 7° 8° 9° C ₆ C ₈ C ₉ C ₇
			$C_7 = 0.44$; $C_8 = 0.52$; $C_9 = 0.62$	

2. Tipo de muestras y esquema de distribución para la evaluación en el entrenamiento final y en la evaluación del desempeño

N°	Sensación	Muestra de	Muestras concentración	Esquema distribución
Sesión	gustativa	referencia	de saponina (%)	(Izquierda a derecha)
		Granos de	$C_1 = 0.14$; $C_2 = 0.48$; $C_3 = 0.57$	1° 2° 3° 4° 5°
		quinua con		C_2 C_1 C_3 C_5 C_4
1	Amargo	diferente	$C_4 = 0.64$; $C_5 = 0.75$; $C_6 = 1.40$	
		contenido de	G 270 G 270	6° 7° 8°
		saponina	$C_7 = 2,78; C_8 = 3,79$	C_6 C_8 C_7

Se distribuyó 40 ml de cada muestra, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. El orden de distribución de las muestras fue el mismo para todos los jueces sensoriales a fin de asegurar que la comparación de sus actuaciones no fuera influenciada por el orden distinto de presentación.

En el caso del ordenamiento de las muestras de granos de quinua, se distribuyó un (01) gramo de granos de quinua en vasitos de plásticos descartables, identificados con números aleatorios de 3 dígitos. Asimismo, por cada muestra se entregó una cucharita de plástico descartable para facilitar la evaluación. Por otro lado la prueba se repitió 2 veces.

3. Formato de evaluación

PRUEBA DE ORDENAMIENTO

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

Evalúe las muestras, en el orden indicado, y ordénelas de acuerdo a la intensidad en cuanto al sabor, colocando en primer lugar (1) la que presenta menor intensidad del sabor amargo, hasta el último lugar (9) donde colocará la que presenta mayor intensidad del sabor amargo.

CÓDIGO MUESTRA	ORDEN EN CUANTO A LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO

Observaciones:		

[©] Muy agradecidos por su participación!

ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA LINEAL NO ESTRUCTURADA

1. Formatos de evaluación

ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA EMPLEANDO FIGURAS GEOMÉTRICAS (I)

Nombres y Apellidos:		Ficha:	Fecha:	Hora:
Indicaciones:				
Evalúe cada figura geométrica e indique en la línea	a horizontal, con un trazo vertical, la	proporción de la pa	arte sombreada o achu	ırada.
Nada	Todo +	Nada —		Todo
		> 		
+	+	+		+
		+		+
+		+		+

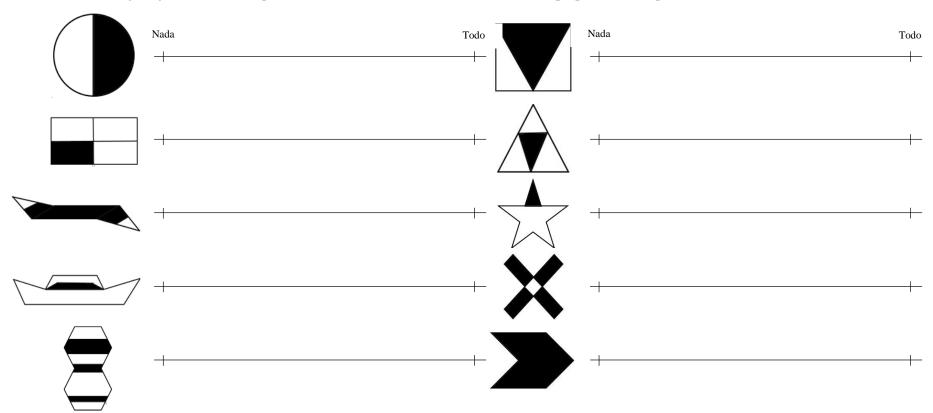
Muy agradecidos por su participación!

ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA EMPLEANDO FIGURAS GEOMÉTRICAS (II)

Nombres y Apellidos:	Ficha:	Fecha:	Hora:

Indicaciones:

Evalúe cada figura geométrica e indique en la línea horizontal, con un trazo vertical, la proporción de la parte sombreada o achurada.



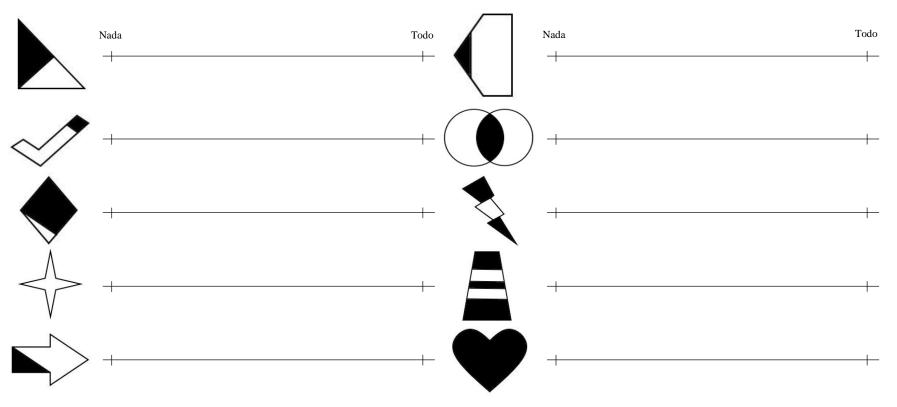
© Muy agradecidos por su participación!

ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA EMPLEANDO FIGURAS GEOMÉTRICAS (III)

Nombres y Apellidos:	Ficha:	Fecha:	Hora:
----------------------	--------	--------	-------

Indicaciones:

Evalúe cada figura geométrica e indique en la línea horizontal, con un trazo vertical, la proporción de la parte sombreada o achurada.



Muy agradecidos por su participación!

2. Obtención de las muestras de referencia

Las muestras de referencia se obtuvieron a partir de una accesión de quinua amarga (contenido de saponina mayor a 0,4 %, según Bhargava *et al.* 2006) que se sometió a lavados sucesivos (desaponificación por vía húmeda) a través de las siguientes etapas:

- a. Limpieza. Se realizó en forma manual y empleando un tamiz de 2 mm y luego otro de 1,2 mm de abertura, que permitió eliminar piedrecitas, tallitos y pajitas.
- b. Lavado. Se lavó la quinua en un balde conteniendo agua potable y granos de quinua en una relación 5:1 respectivamente. Se frotó la quinua entre las manos durante 30 segundos y se eliminó el agua de lavado, empleando un colador. Luego se separó una porción de quinua del primer lavado y se prosiguió con el resto, agregando nuevamente agua en la relación indicada. El proceso se repitió hasta el 15avo lavado, en el cual no se observó formación de espuma, evidenciando que la quinua estaba desaponificada.
- c. Secado. Se secaron las muestras de quinua provenientes de los lavados, colocando las muestras en bandejas de papel aluminio y se secaron a una temperatura máxima de 60°C, hasta que la humedad de los granos fue máximo de 10%.
- d. Envasado. Se envasaron las muestras control en bolsas de polietileno de alta densidad.
- e. Determinación de contenido de saponinas. Se evaluó el contenido de saponinas de las muestras control siguiendo el método indicado en el punto 3.3.2.

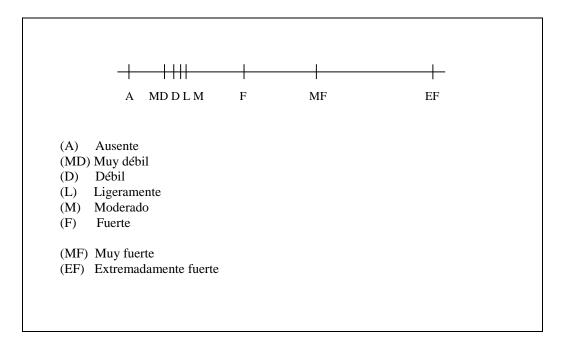
3. Escala de categorías y escala lineal no estructurada en función a las muestras de referencia

En función al contenido de saponinas de las muestras de referencia se definió la escala de categorías así como su ubicación en la escala lineal no estructurada de 10 cm., aplicando la decisión por consenso de los jueces entrenados, obteniendo lo indicado a continuación. Cabe señalar que en la escala se incluyó a la muestra de quinua limpia sin lavar.

Muestra de referencia de granos de quinua	Saponinas (%)	Nivel en escala de categorías	Nivel en escala lineal no estructurada (cm) (Valor nominal)
Sin lavar	3,89	(EF) Extremadamente fuerte	10,0
1L	2,39	(MF) Muy fuerte	6,2
2L	1,48	(F) Fuerte	3,8
3L	0,75	(M) Moderado	1,9
4L	0,64	(L) Ligeramente	1,7
5L	0,58	(D) Débil	1,5
7L	0,47	(MD) Muy débil	1,2
12L	0,08	(A) Ausente	0,0

(1L, 2L,...,12L: Número de lavados de las muestras)

La representación de la escala lineal no estructurada en función a las muestras de referencia se presenta a continuación:



Para la evaluación, las muestras de referencia se distribuyeron un (01) gramo de granos de quinua en vasitos de plásticos descartables, identificados con números aleatorios de 3 dígitos. Asimismo, por cada muestra se entregó una cucharita de plástico descartable para facilitar la evaluación.

4. Formato de evaluación para el entrenamiento en la escala empleando muestras de referencia o muestras en estudio

A continuación se presenta el formato empleado.

ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA EMPLEANDO MUESTRAS DE REFERENCIA O MUESTRAS EN ESTUDIO

Nombres y	Apellidos:		Ficha:	Fecha:	Hora:
Indicacion	es:				
Evalúe cada	muestra e indique en la líne	a horizontal, con un trazo vertical, la intensi	dad del sabor amargo		
Código Muestra	Ausente	Extremadamente Códig Fuerte Muest			Extremadamente Fuerte
	. '	' <u></u>			l
					-
	-		+		
			<u> </u>		
	+				+

© Muy agradecidos por su participación!

EVALUACIÓN DEL ESTADO DEL CATADOR DE PROP (6-n-Propylthiouracil)

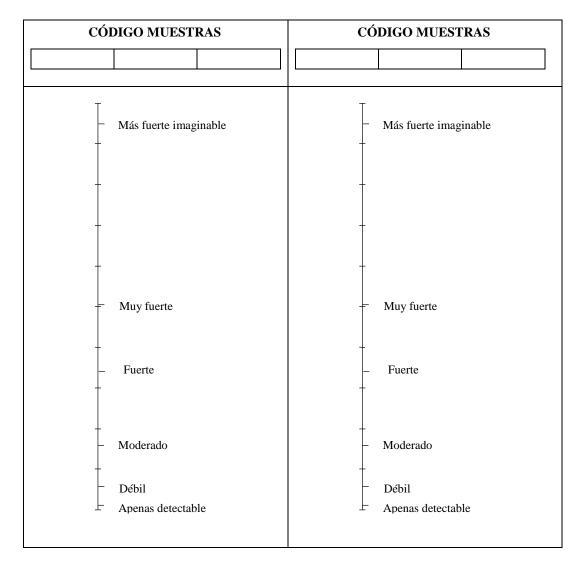
1. Formato de evaluación

EVALUACIÓN DEL CATADOR PROP

	Ficha:
Nombres y Apellidos:	Fecha:
	Hora:

Indicaciones:

Evalúe las muestras de cada grupo en el orden indicado, y en la escala marque la intensidad del sabor de cada muestra.



Observaciones:

[©] Muy agradecidos por su participación!

ANALISIS ESTADÍSTICO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS VARIEDADES DE QUINUA

	Variedades de quinua								
Componentes	Blanc	a de Hua (BH)	lhuas	Rosada de Huancayo (RHY)		Pasankalla (PK)			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3
Humedad (bh)	10,06	10,12	10,09	11,37	11,38	11,38	12,20	12,25	12,23
Humedad (bs)	11,19	11,26	11,22	12,83	12,84	12,84	13,90	13,96	13,93
Proteína (bs)	19,38	19,39	19,39	17,42	17,42	17,42	19,50	19,67	19,59
Grasa (bs)	10,15	10,08	10,12	6,90	6,95	6,93	7,02	6,93	6,98
Fibra cruda (bs)	6,44	6,66	6,55	5,16	5,14	5,15	6,30	6,30	6,30
Ceniza (bs)	3,88	3,86	3,87	2,84	2,80	2,82	3,65	3,62	3,64
Carbohidratos (bs)	66,59	66.67	66,63	72,84	72,83	72,84	69,84	69,78	69,81
Saponina	0,42	0,42	0,42	0,10	0,10	0,10	0,01	0,01	0,01

Rep. = Repetición / Prom. = Promedio / bh = base húmeda / bs = base seca.

9.1 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD DE VARIEDADES DE QUINUA

9.1.1 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD EN BASE HUMEDA (bh) (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Humedad (%) versus Variedades de Quinua

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Variedades Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades Quinua 2 6.94336 3.47168 6647.89 0.000

Error 6 0.00313 0.00052

Total 8 6.94649

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0228522 99.95% 99.94% 99.90%

Means

 Quinua
 N
 Mean
 StDev
 95% CI

 1
 3
 10.0900
 0.0300
 (10.0577; 10.1223)

 2
 3
 11.3767
 0.0058
 (11.3444; 11.4090)

 3
 12.2267
 0.0252
 (12.1944; 12.2590)

Pooled StDev = 0.0228522

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Quinua N Mean Grouping

3 3 12.2267 A 2 3 11.3767 B 1 3 10.0900 C Means that do not share a letter are significantly different.

9.1.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD EN BASE SECA (bs) (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Humedad (%) versus Variedades de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades de Quinua 2 11.1320 5.56598 6683.99 0.000 6 0.0050 0.00083 8 11.1370 Error

Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0288571 99.96% 99.94% 99.90%

Means

Variedades

de Quinua N Mean StDev 95% CI 3 11.2223 0.0371 (11.1816; 11.2631) 3 12.8371 0.0074 (12.7963; 12.8779) 3 13.9298 0.0327 (13.8891; 13.9706) 1 Pooled StDev = 0.0288571

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

de Quinua N Mean Grouping 3 13.9298 A 3 3 12.8371 B 3 11.2223

Means that do not share a letter are significantly different.

9.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA PROTEÍNA DE VARIEDADES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Proteina (%) versus Variedades de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Adj SS Adj MS F-Value P-Value DF Variedades de Quinua 2 8.59434 4.29717 1776.10 0.000

6 0.01452 0.00242 Error

Total 8 8.60886

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0491878 99.83% 99.78% 99.62% Means Variedades de Quinua N Mean StDev 95% CI 3 19.3867 0.0058 (19.3172; 19.4562) 3 17.42 0.00 (17.35; 17.49) 3 19.5850 0.0850 (19.5155; 19.6545) Pooled StDev = 0.0491878

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

de Quinua N Mean Grouping 3 19.5850 A 3 19.3867 2 3 17.42 С

Means that do not share a letter are significantly different.

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA GRASA DE VARIEDADES DE QUINUA 9.3 (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Grasa (%) versus Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level $\alpha = 0.05$ Equal variances were assumed for the analysis.

Levels Values Factor Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Factor Information

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades de Quinua 2 20.0382 10.0191 7756.72 0.000 Error 6 0.0078 0.0013 Total 8 20.0460

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0359398 99.96% 99.95%

Means

Variedades

Mean StDev 95% CI de Quinua N 3 10.1150 0.0350 (10.0642; 10.1658) 3 6.9250 0.0250 (6.8742; 6.9758) 3 6.9750 0.0450 (6.9242; 7.0258) 3 Pooled StDev = 0.0359398

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

de Quinua N Mean Grouping 3 10.1150 A 1 3 6.9750 B 3 2 3 6.9250 В

Means that do not share a letter are significantly different.

9.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA FIBRA CRUDA DE VARIEDADES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Fibra Cruda (%) versus Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level $\alpha = 0.05$ Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades de Quinua 2 3.34500 1.67250 411.27 0.000 Error 6 0.02440 0.00407

Total 8 3.36940

Model Summarv

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0637704 99.28% 99.03%

Means

Variedades

de Quinua N Mean StDev 95% CI 1 3 6.5500 0.1100 (6.4599; 6.6401) 2 3 5.15000 0.01000 (5.05991; 5.24009) 3 6.300 0.000 (6.210; 6.390) Pooled StDev = 0.0637704

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

Mean Grouping 6.5500 A de Quinua N 1 3

3 6.300 B 3 5.15000

Means that do not share a letter are significantly different.

9.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CENIZA DE VARIEDADES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Ceniza (%) versus Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level $$\alpha=0.05$$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades de Quinua 2 1.82195 0.910975 3769.55 0.000 6 0.00145 0.000242

Error

8 1.82340 Total

Model Summary

```
S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred)
0.0155456 99.92% 99.89% 99.82%

Means

Variedades
de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 3.87000 0.01000 (3.84804; 3.89196)
2 3 2.8200 0.0200 (2.7980; 2.8420)
3 3 3.63500 0.01500 (3.61304; 3.65696)
Pooled StDev = 0.0155456
```

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

Means that do not share a letter are significantly different.

9.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS CARBOHIDRATOS DE VARIEDADES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Carbohidratos (%) versus Quinua

Method

-

Factor Information

Factor Levels Values
Variedades de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Variedades de Quinua 2 57.7651 28.8825 34315.87 0.000 Error 6 0.0050 0.0008 Total 8 57.7701

100a1 0 07.

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0290115 99.99% 99.99% 99.98%

Means

Variedades

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 66.6300 0.0400 (66.5890; 66.6710)
2 3 72.8350 0.0050 (72.7940; 72.8760)
3 69.8100 0.0300 (69.7690; 69.8510)
Pooled StDev = 0.0290115

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

9.7 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA SAPONINA DE VARIEDADES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Saponina (%) versus Variedades de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor 3 1; 2; 3 Variedades de Quinua

Analysis of Variance

 Source
 DF
 Adj SS
 Adj MS
 F-Value
 P-Value

 Variedades de Quinua
 2
 0.278600
 0.139300
 *
 *
 *

 Error
 6
 0.000000
 0.000000
 *
 *
 *

Total 8 0.278600

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0 100.00% 100.00% 100.00%

Means

Variedades

de Quinua	N	Mean	StDev	95%	CI
1	3	0.4200	0.0000	(0.4200;	0.4200)
2	3	0.1000	0.0000	(0.1000;	0.1000)
3	3	0.01000	0.00000	(0.01000;	0.01000)
Pooled StD	ev =	0			

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Variedades

de Ouinua N Mean Grouping 1 3 0.4200 A 3 0.1000 B 3 0.01000 2

ANEXO 10

ANALISIS ESTADÍSTICO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, RENDIMIENTO, TAMAÑO Y CRISTALINIDAD DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

				Varie	lades de c	uinua					
Componentes	Bland	ca de Hua (BH)	lhuas	Rosac	la de Hua (RHY)	ncayo	Pasankalla (PK)				
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Humedad (bh)											
Humedad (bs)	12,71	12,46	12,59	11,89	11,82	11,86	11,72	11,98	11,85		
Proteína	0,71	0,71	0,71	0,58	0,58	0,58	0,73	0,73	0,73		
Grasa	0,62	0,57	0,60	0,95	0,91	0,93	0,98	0,92	0,95		
Fibra cruda	1,57	1,52	1,55	1,16	1,14	1,15	1,17	1,15	1,16		
Ceniza	1,39	1,34	1,37	1,56	1,49	1,53	2,32	2,31	2,32		
Almidón	59,60	59,54	59,57	62,32	62,42	62,37	53,82	53,75	53,79		
Amilosa	15,30	15,40	15,35	14,39	14,26	14,33	11,21	11,34	11,28		
Amilopectina	84,70	84,60	84,65	85,61	85,74	85,68	88,79	88,66	88,73		
Rendimiento	32,69	32,71	32,69	29,62	29,58	29,63	30,53	30,47	30,52		

Rep. = Repetición

10.1 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD DE LOS ALMIDONES DE **QUINUA**

10.1.1ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD EN BASE HUMEDA (bh) (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Humedad (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

 Source
 DF
 Adj SS
 Adj MS

 Almidones de Quinua
 2
 0.67865
 0.339325

 Error
 6
 0.04385
 0.007308
 Adj MS F-Value P-Value 46.43 0.000

8 0.72250 Total

Model Summary

R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0854888 93.93% 91.91% 86.34%

Means

Almidones

N Mean StDev 95% CI 3 11.1800 0.1000 (11.0592; 11.3008) 3 10.6000 0.0300 (10.4792; 10.7208) de Quinua N 3 10.5950 0.1050 (10.4742; 10.7158)

Pooled StDev = 0.0854888

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

10.1.1ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD EN BASE SECA (bs) (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Humedad (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level α = 0.05 Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 1.07639 0.53820 46.49 0.000 Error 6 0.06947 0.01158 Total 8 1.14586

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.107599 93.94% 91.92% 86.36%

Means

Almidones
de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 12.5874 0.1268 (12.4353; 12.7394)
2 3 11.8568 0.0375 (11.7048; 12.0088)
3 3 11.8507 0.1314 (11.6987; 12.0027)
Pooled StDev = 0.107599

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

10.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA PROTEÍNA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Proteina (%) versus Almidones de Quinua Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 0.039800 0.019900 * * Error 6 0.000000 0.000000 Total 8 0.039800

Model Summary

R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0 100.00% 100.00% 100.00%

Means

Almidones

95% CI de Quinua N Mean StDev 3 0.7100 0.0000 (0.7100; 0.7100) 3 0.5800 0.0000 (0.5800; 0.5800) 3 0.7300 0.0000 (0.7300; 0.7300) 3

Pooled StDev = 0

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

de Quinua N Mean Grouping 3 3 0.7300 A 3 0.7100 1

3 0.5800

Means that do not share a letter are significantly different.

10.3 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA GRASA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Grasa (%) versus Almidones de Quinua

Method

All means are equal Null hypothesis

Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values 3 1; 2; 3 Factor Almidones de Quinua

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value 2 0.238650 0.119325 185.96 0.000 6 0.003850 0.000642 Source Almidones de Ouinua Error

8 0.242500 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0253311 98.41% 97.88% 96.43%

Means

Almidones

Mean StDev de Ouinua N 95% CI 3 0.5950 0.0250 (0.5592; 0.6308) 3 0.9300 0.0200 (0.8942; 0.9658) 3 0.9500 0.0300 (0.9142; 0.9858)

Pooled StDev = 0.0253311

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

de Ouinua N Mean Grouping 3 0.9500 A 3 2 3 0.9300 A 3 0.5950 B 1

10.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA FIBRA CRUDA DE LOS ALMIDONES DE **QUINUA**

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Fibra Cruda (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Adj SS Adj MS F-Value P-Value DF 2 0.304350 0.152175 553.36 0.000 Almidones de Quinua 6 0.001650 0.000275

8 0.306000 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0165831 99.46% 99.28%

Means

Almidones

StDev de Quinua N Mean 95% CI 3 1.5450 0.0250 (1.5216; 1.5684) 3 1.15000 0.01000 (1.12657; 1.17343) 3 1.16000 0.01000 (1.13657; 1.18343)

Pooled StDev = 0.0165831

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Ouinua N Mean Grouping 1.5450 A 3 3 1.16000 В В 3 1.15000

Means that do not share a letter are significantly different.

10.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CENIZA DE LOS ALMIDONES DE OUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Ceniza (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values 3 1; 2; 3 Almidones de Quinua

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Source 2 1.55220 0.776100 1241.76 0.000 6 0.00375 0.000625 Almidones de Quinua

Error

8 1.55595 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred)

```
0.025 99.76% 99.68% 99.46%
Means
Almidones
de Quinua N
            Mean
                    StDev
                                95% CI
           1.3650 0.0250 (1.3297; 1.4003)
         3
         3 1.5250 0.0350 (1.4897; 1.5603)
```

3 2.31500 0.00500 (2.27968; 2.35032) Pooled StDev = 0.025

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones
de Quinua N Mean
3 2.31500 A Mean Grouping 1.3650 1 3

Means that do not share a letter are significantly different.

10.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL CONTENIDO DE ALIMIDÓN DE LAS **VARIEDADES DE QUINUA**

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Almidón (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor 3 1; 2; 3 Almidones de Quinua

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value 2 115.008 57.5042 37300.04 0.000 Source DF Almidones de Quinua 0.0015

0.009 Error 6 Total 8 115.018

Model Summary

R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0392641 99.99% 99.99% 99.98%

Means

Almidones

N Mean StDev 95% CI 3 59.5700 0.0300 (59.5145; 59.6255) de Quinua N 3 62.3700 0.0500 (62.3145; 62.4255) 3 53.7850 0.0350 (53.7295; 53.8405)

Pooled StDev = 0.0392641

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping 3 62.3700 A 2 3 59.5700 3 53.7850 1

10.7 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL CONTENIDO DE AMILOSA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Amilosa (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 26.9588 13.4794 3692.98 0.000

Error 6 0.0219 0.0036

Total 8 26.9807

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0604152 99.92% 99.89% 99.82%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 15.3500 0.0500 (15.2646; 15.4354)
2 3 14.3250 0.0650 (14.2396; 14.4104)
3 3 11.2750 0.0650 (11.1896; 11.3604)
Pooled StDev = 0.0604152

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

10.8 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL CONTENIDO DE AMILOPECTINA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Amilopectina (%) versus Almidones de Quinua Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 26.9587 13.4794 3692.98 0.000

Error 6 0.0219 0.0036

Total 8 26.9806

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0604152 99.92% 99.89% 99.82%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 84.6500 0.0500 (84.5646; 84.7354)
2 3 85.6750 0.0650 (85.5896; 85.7604)
3 3 88.7250 0.0650 (88.6396; 88.8104)
Pooled StDev = 0.0604152

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

10.9 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL RENDIMIENTO DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Rendimiento (%) versus Almidones de Quinua

Method

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 15.1713 7.58564 10667.31 0.000 Error 6 0.0043 0.00071

8 15.1756

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0266667 99.97% 99.96% 99.94%

Means

Total

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 32.6967 0.0115 (32.6590; 32.7343)
2 3 29.6100 0.0265 (29.5723; 29.6477)
3 3 30.4900 0.0361 (30.4523; 30.5277)
Pooled StDev = 0.0266667

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping
1 3 32.6967 A
3 30.4900 B
2 3 29.6100 C

10.10 ANÁLISIS DE VARIANZA DE TAMAÑO DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

	Tamaño (μm) de los Almidones de quinua							
Repeticiones	Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)					
Rep. 1	1.293	1.543	1.037					
Rep. 2	1.524	1.276	1.124					
Rep. 3	1.763	1.21	1.057					
Rep. 4	1.398	1.41	1.081					
Prom. ± D.E.	1.495±0.20	1.360±0.15	1.075±0.04					

Rep. = Repetición / Prom. = Promedio /D.E. = Desviación estándar.

One-way ANOVA: Tamaño (µm) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Ouinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 0.3674 0.18372 8.58 0.008 Error 9 0.1926 0.02140

Error

11 0.5601 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.146297 65.61% 57.96%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI 4 1.494 0.202 (1.329; 1.660) 4 1.3598 0.1478 (1.1943; 1.5252) 4 1.0747 0.0374 (0.9093; 1.2402)

Pooled StDev = 0.146297

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping

4 1.494 A 4 1.3598 A 4 1.0747

10.11 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CRISTALINIDAD DE LOS ALMIDONES DE OUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

	Cristalinidad (%) de los Almidones de quinua							
Repeticiones	Blanca de Hualhuas (BH)	Rosada de Huancayo (RHY)	Pasankalla (PK)					
Rep. 1	36,90	37,50	39,20					
Rep. 2	36,90	37,50	39,20					
Rep. 3	36,90	37,50	39,20					
Prom. ± D.E.	36,90±0,00	37,50±0,00	39,20±0,00					

Rep. = Repetición / Prom. = Promedio /D.E. = Desviación estándar.

One-way ANOVA: Cristalinidad versus Almidón de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidón de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidón de Quinua 2 8.54000 4.27000 * *

Error 6 0.00000 0.00000

Total 8 8.54000

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0 100.00% 100.00% 100.00%

Means

Almidón

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 36.90 0.00 (36.90; 36.90)
2 3 37.50 0.00 (37.50; 37.50)
3 3 39.20 0.00 (39.20; 39.20)

Pooled StDev = 0

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidón

de Quinua N Mean Grouping 3 39.20 A 2 3 37.50 B 1 3 36.90 C

ANEXO 11

ANALISIS ESTADÍSTICO DE LAS PROPIEDADES TÉRMICAS DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

11.1 PROPIEDADES TÉRMICAS EN DSC

		Variedades de quinua										
Propiedades térmicas	Blanc	Blanca de Hualhuas (BH)		Rosad	a de Hua (RHY)	ncayo	P	Pasankalla (PK)				
	Rep. 1	Rep.2	Rep.3	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Re.1	Rep.2	Rep.3			
T _o (°C)	62,02	62,34	62,18	62,25	62,65	62,45	60,09	59,69	59,89			
$T_p(^{\circ}C)$	Γ _c (°C) 75,65 75,76		68,08	68,57	69,11	68,84	66,46	66,12	66,29			
T _c (°C)			75,71	77,48	77,60	77,54	75,74	75,74	75,74			
ΔH (J/g)			8,66	9,94	9,64	9,79	9,39	9,27	9,33			

Rep. = Repetición / T_0 = Temperatura de inicio on set) / T_p = Temperatura pico

11.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TEMPERATURA DE INICIO (T₀, ON SET) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: To (°C) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Source 2 11.8706 5.93530 168.62 0.000 Almidones de Quinua Error 6 0.2112 0.03520

8 12.0818 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.187617 98.25% 97.67% 96.07%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI 3 62.1800 0.1600 (61.9149; 62.4451) 3 62.450 0.200 (62.185; 62.715) 3 59.890 0.200 (59.625; 60.155) Pooled StDev = 0.187617

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

Almidones de Quinua N Mean San 62.450 A Mean Grouping 3 62.450 A 3 62.1800 A 1 3 59.890

 T_c =Temperatura final o conclusión / ΔH = Entalpía de gelatinización

Means that do not share a letter are significantly different.

11.3 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TEMPERATURA PICO (T_D, PEAK) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Tp (°C) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value 2 10.2740 5.13698 145.35 0.000 DF Almidones de Quinua

0.2120 0.03534 Error 6

8 10.4860 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.187994 97.98% 97.30% 95.45%

Means

Almidones

N Mean StDev 95% CI 3 68.0750 0.0650 (67.8094; 68.3406) 3 68.840 0.270 (68.574; 69.106) 3 66.2900 0.1700 (66.0244; 66.5556) de Ouinua N

Pooled StDev = 0.187994

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping 3 68.840 A 3 68.0750 1 66.2900 3

Means that do not share a letter are significantly different.

11.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TEMPERATURA FINAL (T_c, CONCLUSION) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: T_c (°C) versus Almidones de Quinua

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 6.60845 3.30422 1496.25 0.000

6 0.01325 0.00221 8 6.62170 Error

Total

Model Summary

```
S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred)
0.0469929 99.80% 99.73% 99.55%
```

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 75.7050 0.0550 (75.6386; 75.7714)
2 3 77.5400 0.0600 (77.4736; 77.6064)
3 75.74 0.00 (75.67; 75.81)

Pooled StDev = 0.0469929

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

11.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ENTALPÍA DE GELATINIZACIÓN (ΔΗ) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: ΔH (J/g) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 1.93740 0.96870 76.08 0.000 Error 6 0.07640 0.01273

Total 8 2.01380

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.112842 96.21% 94.94% 91.46%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 8.6600 0.1100 (8.5006; 8.8194)
2 3 9.7900 0.1500 (9.6306; 9.9494)
3 3 9.3300 0.0600 (9.1706; 9.4894)
Pooled StDev = 0.112842

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping 2 3 9.7900 A 3 9.3300 B 1 3 8.6600 C

ANEXO 12

ANALISIS ESTADÍSTICO DE LAS PROPIEDADES DE PEGADO O GEL DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

12.1 PROPIEDADES TÉRMICAS DE PEGADO EN DSC

		Variedades de quinua								
Propiedades de pegado	Blanc	a de Hua (BH)	alhuas	Rosad	a de Hua (RHY)	ancayo	P	asankall (PK)	a	
	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Re.1	Rep.2	Rep.3	
P.Temp. (°C)) 68,65 67		68,28	68,75	68,60	68,68	66,05	66,10	66,08	
P.Time (min)	5,07	5,13	5,10	5,40	5,27	5,34	4,40	4,46	4,43	
PV (cP)	4462	4534	4498	4905	4835	4870	5265	5201	5233	
BD (cP)	1114	956	1035	1174	1309	1242	2234	2050	2142	
SB (cP)	1516	1403	1460	1575	1617	1596	1347	1355	1351	
TR (cP)			3463	3731	3526	3629	3031	3151	3091	
FV (cP)			4923	5306	5143	5225	4506	4378	4442	

PV (Viscosidad máxima), P.Temp. (Temperatura de pegado), P.Time (Tiempo pico o máximo), BD (Viscosidad de ruptura), FV (Viscosidad final), SB (Viscosidad de restitución), TR (Viscosidad de caida) Rep. = Repetición

12.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TEMPERATURA DE PEGADO (P. Temp.) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: P.Temp. (°C) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values Factor Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 11.7600 5.88000 120.10 0.000

6 0.2938 0.04896 Error 8 12.0538

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.221265 97.56% 96.75% 94.52% 94.52%

Means

Total

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI 1 3 68.275 0.375 (67.962; 68.588) 3 68.6750 0.0750 (68.3624; 68.9876) 3 66.0750 0.0250 (65.7624; 66.3876)

Pooled StDev = 0.221265

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

de Quinua N Mean Grouping 3 68.6750 A 68.275 A 3 1 3 3 66.0750 B

Means that do not share a letter are significantly different.

12.3 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TIEMPO MÁXIMO O PICO (P. Time.) DE LOS ALMIDONES DE OUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: P.Time (min) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Levels Values de Quinua 3 1; 2; 3 Factor Almidones de Quinua

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 1.32315 0.661575 329.41 0.000 Error 6 0.01205 0.002008 Total 8 1.33520

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0448144 99.10% 98.80%

Means

Almidones

95% CI de Quinua N Mean StDev 3 5.1000 0.0300 (5.0367; 5.1633) 3 5.3350 0.0650 (5.2717; 5.3983) 3 4.4300 0.0300 (4.3667; 4.4933)

Pooled StDev = 0.0448144

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Mean Grouping de Ouinua N 3 5.3350 A 1 3 5.1000 B 3 4.4300

Means that do not share a letter are significantly different.

12.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VISCOSIDAD MÁXIMA (PV) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY v 3 = PK)

One-way ANOVA: PV (cP) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 810378 405189 342.90 0.000 Error 6 7090 1182

Total 8 817468

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 34.3754 99.13% 98.84% 98.05%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 4498.0 36.0 (4449.4; 4546.6)
2 3 4870.0 35.0 (4821.4; 4918.6)
3 5233.0 32.0 (5184.4; 5281.6)
Pooled StDev = 34.3754

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

12.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VISCOSIDAD DE RUPTURA O BREAKDOWN (BD) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: BD (cP) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Total 8 2117514

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 80.1275 98.18% 97.57% 95.91%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 1035.0 79.0 (921.8; 1148.2)
2 3 1241.5 67.5 (1128.3; 1354.7)
3 2142.0 92.0 (2028.8; 2255.2)
Pooled StDev = 80.1275

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

12.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VISCOSIDAD DE RESTITUCIÓN O SETBACK (SB) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: SB (cP) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 90429 45215 37.17 0.000 Error 6 7299 1216 Total 8 97728

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 34.8772 92.53% 90.04% 83.20%

Means

Almidones
de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 1459.5 56.5 (1410.2; 1508.8)
2 3 1596.0 21.0 (1546.7; 1645.3)
3 3 1351.00 4.00 (1301.73; 1400.27)
Pooled StDev = 34.8772

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

12.7 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VISCOSIDAD DE CAIDA (TR) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: TR (cP) versus Almidones de Quinua Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 454680 227340 24.95 0.001 Error 6 54662 9110

Total 8 509343

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 95.4485 89.27% 85.69% 75.85%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 3463.0 115.0 (3328.2; 3597.8)
2 3 3628.5 102.5 (3493.7; 3763.3)
3 3091.0 60.0 (2956.2; 3225.8)
Pooled StDev = 95.4485

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones

de Quinua N Mean Grouping
2 3 3628.5 A
1 3 3463.0 A
3 3091.0 B

Means that do not share a letter are significantly different.

12.8 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VISCOSIDAD FINAL (FV) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: FV (cP) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 934391 467195 98.98 0.000 Error 6 28321 4720 Total 8 962712

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 68.7035 97.06% 96.08% 93.38%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 4922.5 58.5 (4825.4; 5019.6)
2 3 5224.5 81.5 (5127.4; 5321.6)
3 3 4442.0 64.0 (4344.9; 4539.1)
Pooled StDev = 68.7035

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

```
de Quinua N Mean Grouping
2 3 5224.5 A
1 3 4922.5 B
3 4442.0 C
```

ANEXO 13

ANALISIS ESTADÍSTICO DE LAS PROPIEDADES DE LOS GELES DE **ALMIDONES DE QUINUA**

13.1 PROPIEDADES DE LOS GELES DE ALMIDONES BH, RHY Y PK

					Varied	ades de	quinua						
P	Propiedades de los geles	Blanc	a de Hua (BH)	alhuas	Rosad	a de Hua (RHY)	ancayo	P					
		Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Re.1	Rep.2	Rep.3			
	Capacidad de retención de agua (%)	1,12	1,13	1,13	1,04	1,05	1,05	1,20	1,21	1,21			
Fi	irmeza de geles (gf)	15,90	14,93	15,42	9,12	7,88	8,50	21,13	19,85	20,49			
(%)	Agua liberada a 24 h (%)	49,89	47,76	48,83	56,35	56,09	56,22	30,09	32,32	31,21			
Sinérisis	Agua liberada a 72 h (%)	48,48	48,57	48,53	58,21	56,77	57,49	35,50	35,42	35,46			
Siné	Agua liberada a 144 h (%)	51,85	51,76	51,81	56,17	57,08	56,63	30,26	33,99	32,13			

13.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (WHC) DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Cap Ret Agua - WHC (%) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 0.038406 0.019203 628.45 0.000 Error 6 0.000183 0.000031 Total 8 0.038589

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.0055277 99.52% 99.37% 98.93%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 1.12500 0.00500 (1.11719; 1.13281)
2 3 1.04667 0.00577 (1.03886; 1.05448)
3 3 1.20667 0.00577 (1.19886; 1.21448)

Pooled StDev = 0.00552771

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Means that do not share a letter are significantly different.

13.3 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA FIRMEZA DE LOS ALMIDONES DE QUINUA (1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Firmeza geles (gf) versus Almidones de Quinua

Method

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Almidones de Quinua 2 217.333 108.666 316.74 0.000 Error 6 2.058 0.343

Total 8 219.391

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.585726 99.06% 98.75% 97.89%

Means

Almidones

 de Quinua
 N
 Mean
 StDev
 95% CI

 1
 3
 15.415
 0.485
 (14.588; 16.242)

 2
 3
 8.500
 0.620
 (7.673; 9.327)

 3
 20.490
 0.640
 (19.663; 21.317)

Pooled StDev = 0.585726

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

13.4 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA SINERESIS A 24 h DE LOS ALMIDONES DE **QUINUA**

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Sinerisis 24h (%) versus Almidones de Quinua

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value 2 990.901 495.450 Almidones de Quinua 620.77 0.000 6 4.789 0.798

Total 8 995.689

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.893374 99.52% 99.36%

Means

Almidones

de Quinua N N Mean StDev 95% CI 3 48.825 1.065 (47.563; 50.087) 3 56.2200 0.1300 (54.9579; 57.4821) 3 3 31.205 1.115 (29.943; 32.467) Pooled StDev = 0.893374

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

Mean Grouping de Ouinua N 3 56.2200 A 3 48.825

31.205

3

Means that do not share a letter are significantly different.

C

13.5 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA SINERESIS A 72 h DE LOS ALMIDONES DE **QUINUA**

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Sinerisis 72h (%) versus Almidones de Quinua Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values Almidones de Ouinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value Source Almidones de Quinua 2 736.386 368.193 2115.95 0.000 Error 6 1.044 0.174

8 737.430 Total

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 0.417143 99.86% 99.81% 99.68%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 48.5250 0.0450 (47.9357; 49.1143)
2 3 57.490 0.720 (56.901; 58.079)
3 3 35.4600 0.0400 (34.8707; 36.0493)
Pooled StDev = 0.417143

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Almidones de Ouinua

Means that do not share a letter are significantly different.

13.6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA SINERESIS A 144 h DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

(1 = BH, 2 = RHY y 3 = PK)

One-way ANOVA: Sinerisis 144h (%) versus Almidones de Quinua

Method

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
Almidones de Quinua 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

 Source
 DF
 Adj SS
 Adj MS
 F-Value
 P-Value

 Almidones de Quinua
 2
 1010.78
 505.392
 411.19
 0.000

 Error
 6
 7.37
 1.229

Total 8 1018.16

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 1.10864 99.28% 99.03% 98.37%

Means

Almidones

de Quinua N Mean StDev 95% CI
1 3 51.8050 0.0450 (50.2388; 53.3712)
2 3 56.625 0.455 (55.059; 58.191)
3 3 32.13 1.87 (30.56; 33.69)
Pooled StDev = 1.10864

Fisher Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence Almidones

ANEXO 14

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EMPAREJAMIENTO

14.1 RESULTADOS EMPLEANDO SUSTANCIAS SÁPIDAS DE GUSTOS BÁSICOS

Jueces sensoriales	Sacarosa (Dulce)	Ácido cítrico (Ácido)	Cafeína monohidratada (Amargo)	Cloruro de sodio (Salado)	Acierto (%)
Juez 1	1	1	1	1	100
Juez 2	1	1	1	1	100
Juez 3	1	1	1	1	100
Juez 4	1	1	1	1	100
Juez 5	1	1	1	1	100
Juez 6	1	1	1	1	100
Juez 7	1	1	1	1	100

^{(1):} Acierto

14.2 RESULTADOS EMPLEANDO SUSTANCIAS SÁPIDAS RELACIONADAS AL GUSTO AMARGO

	Soluciones sápidas amargas y astringentes									
Jueces sensoriales	Cafeína monohidratada	Ácido tánico	Saponina química	Saponina química y ácido tánico	Acierto (%)					
Juez 1	1	1	1	1	100					
Juez 2	1	1	1	1	100					
Juez 3	1	1	1	1	100					
Juez 4	1	1	1	1	100					
Juez 5	1	1	1	1	100					
Juez 6	Juez 6 1		1	1	100					
Juez 7	1	1	1	1	100					

^{(1):} Acierto

ANEXO 15 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPARACIÓN POR PAREJAS

		P	arej	as c	le s	oluc	cion	es s	ápio	las	ama	arga	as y	astı	ring	ent	e		100 100 100 100 100
Jueces			apo juín (%	iica			n		Cafe ohio	lrat		ì		Áci	do (%	táni 6)	co		
sensoriales	0,: y	1	2,8 y	3	6, y		0,: y		0,		9, 3		0, y		0, y		0,9 y	9	(%)
	0,	2	3,0	0	7,		0,		0,		1,		0,		0,		1,0	0	
	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	
Juez 1	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100
Juez 2	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100
Juez 3	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100
Juez 4	1		1		1		1		1		1	l	1		1		1		100
Juez 5	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100
Juez 6	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100
Juez 7	1		1		1		1		1		1		1		1		1		100

R1 y R2: Repeticiones de la prueba (1): Acierto

ANEXO 16 RESULTADOS DE LA PRUEBA TRIANGULAR

		Par	es de	muest	ras di	ferent	es en l	la pru	eba tr	iangu	lar												
Jueces sensoriales				vo de scarifi 6)		ina	Ċ	Gran liferer				l	Acierto (%)										
sensoriales	0,	5	3,0		7,0		0,0		0,2	0,21		52	(70)										
	1,	0	4,0 y 8,0			0,09 y 0,25		25	0,0	52													
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2											
Juez 1	1		1	ļ	1	=	1	=	1	=	1	=	100										
Juez 2	1		1		1	-	1	-	1		1	-	100										
Juez 3	1	1 1		1		1	-	1		1	-	100											
Juez 4	1		1	1		1		1		1		1		1		1		1		1		-	100
Juez 5	1		1		1	-	1	-	1		1	-	100										
Juez 6	1		1		1		1		1		1		100										
Juez 7	1		1		1		1		1		1		100										

R1 y R2: Repeticiones de la prueba (1): Acierto

ANEXO 17
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO

	Muestras diferentes en la	prueba de ordenamiento	Acierto (%) 100 100 100 100 100 100 100
Jueces sensoriales	Soluciones de polvo de saponina de quinua escarificada (%)	Granos de quinua con diferente contenido de saponina (%)	
	Orden: 2° 1° 3° 5° 4° 6° 9° 7° 8°	Orden: 2° 1° 3° 5° 4° 6° 9° 7° 8°	
Juez 1	1	1	100
Juez 2	1	1	100
Juez 3	1	1	100
Juez 4	1	1	100
Juez 5	1	1	100
Juez 6	1	1	100
Juez 7	1	1	100

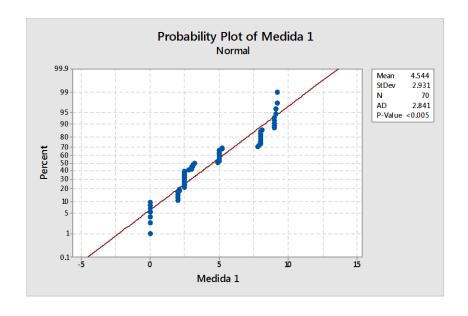
ANEXO 18

RESULTADOS DEL ENTRENAMIENTO EN EL USO DE LA ESCALA LINEAL NO ESTRUCTURADA EMPLEANDO FIGURAS GEOMÉTRICAS

18.1 RESULTADOS CON LAS FIGURAS GEOMÉTRICAS (I)

	Figuras geométricas y Valor nominal en la escala lineal estructurada y respuestas generadas (cm.)									O
Jueces sensoriales	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
	5,0	2,5	0	2,1	5,7	6,7	3,4	2,3	9,0	6,6
Juez 1	5,0	2,5	0	2,0	8,0	5,2	3,1	2,5	9,0	7,8
Juez 2	5,0	2,5	0	2,0	7,9	4,9	3,0	2,5	9,1	8,0
Juez 3	5,0	2,5	0	2,1	8,0	5,0	3,1	2,5	9,0	8,0
Juez 4	5,0	2,5	0	2,0	8,0	5,0	3,0	2,5	9,0	9,0
Juez 5	5,0	2,5	0	2,0	8,0	5,0	3,2	2,5	9,1	8,0
Juez 6	5,0	2,5	0	2,0	9,0	5,2	2,8	2,5	9,2	8,0
Juez 7	5,0	2,5	0	2,1	8,1	5	3,0	2,5	9,2	8,0

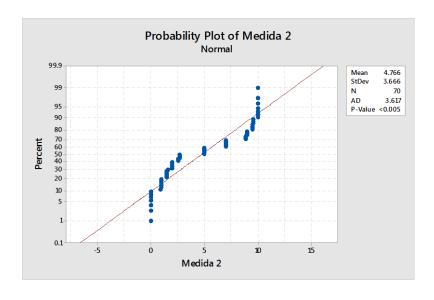
18.1.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD PARA FIGURAS GEOMÉTRICAS (I)



18.2 RESULTADOS CON LAS FIGURAS GEOMÉTRICAS (II)

		Figuras geométricas y Valor nominal en la escala lineal no estructurada y respuestas generadas (cm.)										
Jueces sensoriales	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10		
	5,0	2,5	8,7	1,5	3,7	4,5	1,9	1,4	9,1	10,0		
Juez 1	5,0	2,5	8,5	1,0	3,5	4,9	2,3	1,2	9,3	10,0		
Juez 2	5,0	2,5	8,5	0,9	3,4	4,7	2,2	1,1	9,1	10,0		
Juez 3	5,0	2,5	8,4	0,9	3,5	5,1	2,3	1,4	9,3	10,0		
Juez 4	5,0	2,5	8,5	0,9	3,4	4,7	2,2	1,4	9,3	10,0		
Juez 5	5,0	2,5	8,4	0,8	3,7	5,1	2,3	1,4	9,2	10,0		
Juez 6	5,0	2,5	8,5	1,0	3,5	5,1	2,2	1,1	9,2	10,0		
Juez 7	5,0	2,5	8,5	1,0	3,4	4,7	2,2	1,4	9,3	10,0		

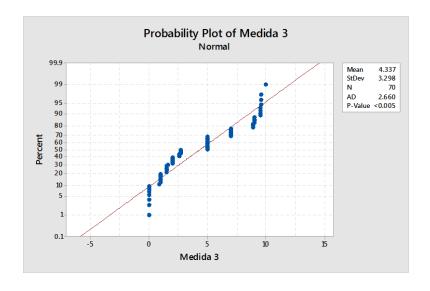
18.2.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD PARA FIGURAS GEOMÉTRICAS II



18.3 RESULTADOS CON LAS FIGURAS GEOMÉTRICAS (III)

	Figuras geométricas y Valor nominal en la escala lineal no estructurada y respuestas generadas (cm.))
Jueces sensoriales	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
	5,0	2,0	8,7	0	2,5	1,1	2,7	6,5	7.9	10,0
Juez 1	5,0	2,0	9,5	0	1,5	1,0	2,7	7,0	8,9	10,0
Juez 2	5,0	2,0	9,6	0	1,5	1,0	2,7	7,0	8,9	10,0
Juez 3	5,0	2,0	9,5	0	1,6	1,0	2,7	7,0	9,0	10,0
Juez 4	5,0	2,0	9,5	0	1,5	1,0	2,6	7,0	9,0	10,0
Juez 5	5,0	2,0	9,6	0	1,5	1,0	2,6	7,0	9,0	10,0
Juez 6	5,0	2,0	9,6	0	1,5	1,0	2,7	7,0	9,0	10,0
Juez 7	5,0	2,0	9,5	0	1,5	0,9	2,6	7,0	8,9	10,0

18.3.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD PARA FIGURAS GEOMÉTRICAS III



ANEXO 19

RESULTADOS DEL ENTRENAMIENTO FINAL

19.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA TRIANGULAR EN EL ENTRENAMIENTO FINAL

	Par										
Jueces sensoriales	Muesti	Acierto (%)									
	0,14 y	y 0,48	0,57 y	0,75	2,78 y	3,79					
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	-				
Juez 1	1	1	1		1		100				
Juez 2	1	1	1		1		100				
Juez 3	1	1	1		1		100				
Juez 4	1	1	1		1		100				
Juez 5	1		1		1		1		1		100
Juez 6	1	1			1		100				
Juez 7	1	1	1		1		100				

R1 y R2: Repeticiones de la prueba

19.2 RESULTADOS DE LA PRUEBA TRIANGULAR EN LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE JUECES ENTRENADOS

	Parc								
Jueces sensoriales	Muestr	Acierto (%)							
	0,14 y	0,48	0,57 y	0,75	2,78 y	3,79			
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	1		
Juez 1	1		1		1		100		
Juez 2	1		1		1		100		
Juez 3	1		1		1		100		
Juez 4	1		1		1		100		
Juez 5	1	1		1		1			100
Juez 6	1	1			1		100		
Juez 7	1		1		1		100		

R1 y R2: Repeticiones de la prueba

^{(1):} Acierto

^{(1):} Acierto

19.3 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO EN EL ENTRENAMIENTO FINAL

Jueces sensoriales	Muestras de r granos de quinu contenido de s Ord 2° 1° 3° 5°	Acierto (%)	
	R1	R2	
Juez 1	1	100	
Juez 2	1		100
Juez 3	1		100
Juez 4	1		100
Juez 5	1	100	
Juez 6	1	100	
Juez 7	1	100	

R1 y R2: Repeticiones de la prueba

(1): Acierto

19.4 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO EN LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LOS JUECES

Jueces sensoriales	Muestras de a granos de quinu contenido de s Ord 2° 1° 3° 5°	Acierto (%)	
	R1	R2	
Juez 1	1	100	
Juez 2	1		100
Juez 3	1		100
Juez 4	1		100
Juez 5	1	100	
Juez 6	1		100
Juez 7	1	100	

R1 y R2: Repeticiones de la prueba

(1): Acierto

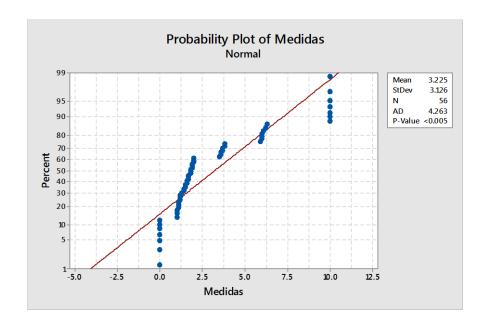
ANEXO 20

RESULTADOS DEL ENTRENAMIENTO FINAL EN EL USO DE LA ESCALA LINEAL NO ESTRUCTURADA EMPLEANDO MUESTRAS DE REFERENCIA

20.1 INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO EN MUESTRAS DE REFERENCIA DE GRANOS DE QUINUA

Jueces sensoriales	II.	Muestras de referencia, Valor nominal del sabor amargo en la escala lineal no estructurada y respuestas generadas (cm.)										
	12L	7L	5Ĺ	4L	3L	2L	1L	SL				
	0,0	1,2	1,5	1,7	1,9	3,8	6,2	10,0				
Juez 1	0	1,1	1,5	1,6	1,9	3,5	6,1	10,0				
Juez 2	0	1,2	1,5	1,7	2,0	3,6	6,2	10,0				
Juez 3	0	1,0	1,2	1,7	2,0	3,7	6,0	10,0				
Juez 4	0	1,0	1,2	1,6	1,9	3,7	6,0	10,0				
Juez 5	0	1,1	1,3	1,8	1,8	3,6	6,0	10,0				
Juez 6	0	1,1	1,4	1,8	1,9	3,8	5,9	10,0				
Juez 7	0	1,0	1,4	1,7	2,0	3,8	6,3	10,0				

20.2 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD DEL PROGRAMA MINITAB 18 DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO EN MUESTRAS DE REFERENCIA DE GRANOS DE QUINUA



ANEXO 21

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO EN EL USO DE LA ESCALA LINEAL NO ESTRUCTURADA PARA LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO

21.1 RESULTADOS DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO DE LAS MUESTRAS DE REFERENCIA DE QUINUA

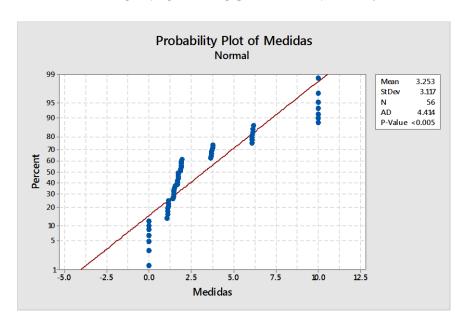
Muestras de referencia		12L				7				5L			4L			
Valor nominal-VN (cm)		0,	,0			1,	2			1,	,5			1,7		
Promedio		0.	,0		1,1				1,5				1,7			
Desv. est. del VN		0,	0,0 0,05				0,0	02			0,01					
Jueces sensoriales	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Juez 1	0	0	0	0	1,2	1,1	1,2	1,2	1,6	1,5	1,6	1,5	1,8	1,7	1,7	1,7
Juez 2	0	0	0	0	1,1	1,1	1,1	1,2	1,4	1,6	1,4	1,5	1,7	1,7	1,8	1,7
Juez 3	0	0	0	0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,5	1,4	1,5	1,4	1,7	1,7	1,6	1,7
Juez 4	0	0	0	0	1,1	1,2	1,1	1,2	1,4	1,4	1,4	1,4	1,8	1,7	1,6	1,7
Juez 5	0	0	0	0	1,2	1,1	1,2	1,1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,8	1,7	1,8	1,7
Juez 6	0	0	0	0	1,0	1,1	1,2	1,2	1,6	1,4	1,4	1,5	1,7	1,6	1,7	1,7
Juez 7	0	0	0	0	1,0	1,2	1,1	1,2	1,4	1,5	1,4	1,5	1,7	1,8	1,6	1,8
	Ů	Ü	Ü	Ü	1,0	1,2	1,1	1,2	1,1	1,0	-,.	- ,-	, ,	-,-	1,0	-,-
Muestras de referencia		3	Ü	Ü	1,0	2		1,2	1,1	1]	,	-,-	, ,	S		-,-
Muestras de referencia Valor nominal-VN (cm)		Ŭ	L		1,0		_	1,2	1,1		L		,	· · ·	L	-,-
		3	L ,9		1,0	2	8	1,2	1,1	1]	L 2	1 -,-	,	S	L ,0	
Valor nominal-VN (cm)		3.	L ,9 ,9		1,0	3,	8	1,2	2,1	6,	L 2 .1		,	S: 10	L ,0 ,0	
Valor nominal-VN (cm) Promedio	R1	3: 1,	L ,9 ,9	R4	R1	3, 3,	8	R4	R1	6,	L 2 .1	R4	R1	Si 10 10	L ,0 ,0	R4
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN	R1 2,0	3. 1, 1, 0,	L ,9 ,9			3, 3, 0,0	8 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7			6, 6, 0,0	L 2 1 07			S: 10 10 10 0,	L ,0 ,0	
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN Jueces sensoriales		3 1, 1, 0,	L ,9 ,9 ,0 R3	R4	R1	3, 3, 0,0	8 7 7 7 R3	R4	R1	6, 6, 0,0	L 2 1 07 R3	R4	R1	Si 10 10 0,	L ,0 ,0 ,0 0 R3	R4
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN Jueces sensoriales Juez 1	2,0	3 1, 1, 0, R2 1,9	L 9 9 9 9 9 1,9 1,9	R4 1,8	R1 3,8	3, 3, 0, R2	8 7 7 R3 3,7	R4 3,8	R1 6,1	11 6, 6, 0,0 R2 6,2	L 2 2 1 07 R3 6,1	R4 6,2	R1 10	S: 10 10 0, R2	L ,0 ,0 ,0	R4
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN Jueces sensoriales Juez 1 Juez 2	2,0 1,8	31 11 0 R2 1,9 1,9	L ,9 ,9 ,0	R4 1,8 1,8	R1 3,8 3,5	3, 3, 0,0 R2 3,7 3,6	88 7 77 77 R3 3,7 3,8	R4 3,8 3,8	R1 6,1 6,0	1) 6, 6, 0,(R2 6,2 6,0	L 2 1 07 R3 6,1 6,2	R4 6,2 6,1	R1 10 10	S: 10 10 0, R2 10	L ,0 ,0 ,0	R4 10 10
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN Jueces sensoriales Juez 1 Juez 2 Juez 3	2,0 1,8 1,8	3 1, 0, R2 1,9 1,9 1,9	L ,9 ,9 ,0	R4 1,8 1,8 1,9	R1 3,8 3,5 3,5	2) 3, 3, 0, R2 3,7 3,6 3,8	88 7 07 R3 3,7 3,8 3,8	R4 3,8 3,8 3,7	R1 6,1 6,0 6,0	1) 6, 6, 0,0 R2 6,2 6,0 6,1	L 2 1 07 R3 6,1 6,2 6,2	R4 6,2 6,1 6,2	R1 10 10 10	S: 10	L ,0 ,0 ,0	R4 10 10 10
Valor nominal-VN (cm) Promedio Desv. est. del VN Jueces sensoriales Juez 1 Juez 2 Juez 3 Juez 4	2,0 1,8 1,8 2,0	3. 1. 0. R2 1.9 1.9 1.9 1.9	L ,9 ,9 ,0	R4 1,8 1,8 1,9 2,0	R1 3,8 3,5 3,5 3,5	23 3, 3, 0, R2 3,7 3,6 3,8 3,8	8 7 7 7 R3 3,7 3,8 3,8 3,7	R4 3,8 3,8 3,7 3,8	R1 6,1 6,0 6,0 6,0	11 6, 6, 0,0 R2 6,2 6,0 6,1 6,1	L 2 1 1 07 R3 6,1 6,2 6,2 6,0	R4 6,2 6,1 6,2 6,2	R1 10 10 10 10	S: 10	R3 10 10 10 10	R4 10 10 10 10

R1, R2, R3, R4: Repeticiones

21.2 PROMEDIO DE LAS MEDICIONES DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO POR MUESTRA DE REFERENCIA DE QUINUA

Jueces sensoriales	MUESTRAS DE REFERENCIA DE QUINUA										
Jucces sensoriales	12L	7L	5L	4L	3L	2L	1L	SL			
Juez 1	0,0	1,2	1,6	1,7	1,9	3,8	6,2	10,0			
Juez 2	0,0	1,1	1,5	1,7	1,9	3,7	6,1	10,0			
Juez 3	0,0	1,1	1,5	1,7	1,9	3,7	6,1	10,0			
Juez 4	0,0	1,2	1,4	1,7	2,0	3,7	6,1	10,0			
Juez 5	0,0	1,2	1,5	1,8	1,9	3,7	6,1	10,0			
Juez 6	0,0	1,1	1,5	1,7	1,9	3,7	6,1	10,0			
Juez 7	0,0	1,1	1,5	1,7	1,9	3,8	6,1	10,0			

21.3 PRUEBA DE NORMALIDAD DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO APLICANDO EL PROGRAMA MINITAB 18

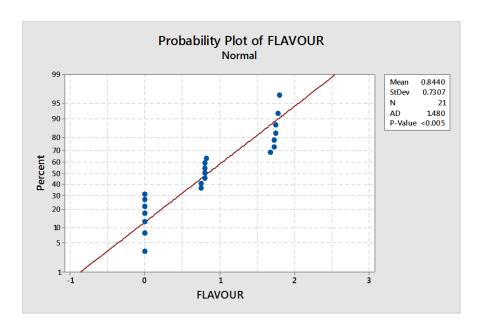


ANEXO 22

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO EN LAS VARIEDADEDE QUINUA

Quinua		Bland Hual	ca de nuas			Rosada de Huancayo				Pasankalla			
Intensidad promedio (cm)	1,74				0,79					0,0			
Valor nominal - VN (cm)		1,	8			0,	8			0,	0		
Desv. est. del VN		0,0)4			0,0)1			0,	0		
Jueces sensoriales	F	Repeti	ciones	1	Repeticiones				Repeticiones				
Jucces sensoriales	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Juez 1	1,7	1,8	1,8	1,6	0,8	0,8	0,8	0,8	0	0	0	0	
Juez 2	1,7	1,8	1,6	1,6	0,8	0,9	0,8	0,8	0	0	0	0	
Juez 3	1,8	1,7	1,6	1,8	0,7	0,8	0,7	0,8	0	0	0	0	
Juez 4	1,7	1,8	1,8	1,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0	0	0	0	
Juez 5	1,8	1,8	1,7	1,7	0,9	0,8	0,8	0,7	0	0	0	0	
Juez 6	1,7	1,8	1,8	1,8	0,8	0,7	0,7	0,8	0	0	0	0	
Juez 7	1,8	1,8	1,8	1,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0	0	0	0	

22.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD DEL PROGRAMA MINITAB 18 DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO EN MUESTRAS DE QUINUA



22.2 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SIGNOS DE LA MEDIANA DE LA INTENSIDAD DEL SABOR AMARGO APLICANDO EL PROGRAMA IBM SPSS STATISTICS VERSIÓN 24

	Prueba de signos de la mediana ($\alpha = 0.05$)
Muestra	Hipótesis Ho: La Mediana poblacional de la intensidad del sabor amargo es igual al valor nominal Ha: La mediana es menor (mayor ó distinta) del valor nominal.
Blanca de	Sign test of median = 1.800 versus ≠ 1.800
Hualhuas	N Below Equal Above P Median FLAVOUR QBH 7 6 1 0 0.0313 1.750
Rosada de	Sign test of median = 0.8000 versus ≠ 0.8000
Huancayo	N Below Equal Above P Median FLAVOUR QRHY 7 2 4 1 1.0000 0.8000
	Sign test of median = 0.00000 versus ≠ 0.00000
Pasankalla	N Below Equal Above P Median FLAVOUR P 7 0 7 0 1.0000 0.00000

ANEXO 23

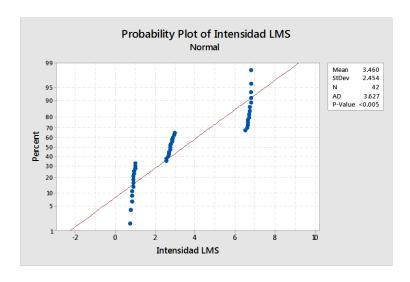
EVALUACIÓN DEL CATADOR PROP

23.1. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL CATADOR PROP (6-n-Propylthiouracil)

Jueces		Solu	cione: (mo	s de N l/L)	aCl		Soluciones de PROP (mmol/L)					
sensoriales	0,01		0,1		1,0		0,032		0,32		3,2	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
Juez 1	1	1	2,9	2,8	6,8	6,6	1	1	2,8	2,7	6,8	6,8
Juez 2	0,9	0,8	2,7	2,7	6,7	6,8	1	1	2,9	3	6,7	6,8
Juez 3	0,8	0,8	2,7	2,6	6,6	6,6	0,9	0,9	2,8	2,9	6,8	6,8
Juez 4	0,7	0,8	2,8	2,7	6,6	6,7	0,9	0,9	2,6	2,5	6,6	6,7
Juez 5	0,9	0,9	2,6	2,5	6,5	6,5	0,8	1	2,7	2,8	6,8	6,8
Juez 6	0,9	0,8	2,8	2,8	6,7	6,7	0,8	0,9	2,7	2,7	6,7	6,6
Juez 7	1	0,9	2,9	2,9	6,9	6,7	0,9	1	3	3	6,7	6,9

R1 y R2 : Repeticiones

23.2 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD DEL PROGRAMA MINITAB 18 DE LA INTENSIDAD DE LAS SOLUCIONES NaCI Y PROP



23.3 PRUEBA NO PARAMÉTRICA DE FRIEDMAN

Friedman Test: Intensidad LMS versus Soluciones NaCl y PROP blocked by Jueces Sensoriales

Hipótesis

Ho: No existes diferencia significativa entre las intensidades del sabor de las soluciones NaCl y PROP. Ha: Al menos una de las intensidades del sabor de las soluciones NaCl o PROP es diferente a las demás.

 $S = 32.29 \ DF = 5 \ P = 0.000$

S = 33.24 DF = 5 P = 0.000 (adjusted for ties)

Soluciones	Est	Sum of	
NaCl y PROP	N	Median	Ranks
1	7	0.850	9.0
2	7	2.717	24.0
3	7	6.642	37.5
4	7	0.883	12.0
5	7	2.767	25.0
6	7	6.692	39.5
Grand median	= 3.	425	

Prueba de Comparación de Friedman

Soluciones:

1 = NaCl (0,01 mol/L) (9), 2 = NaCl (0,1 mol/L) (24), 3 = NaCl (1,0 mol/L) (37,5) 4 = PROP (0,032 mmol/L) (12), 5 = PROP (0,32 mmol/L) (25), 6 = PROP (3,2 mmol/L) (39,5)

Comparación	Diferencia	Estadístico de	Conclusión
		Friedman	
1 – 2	9 – 24 = 15	3,42	*
1 – 3	9-37,5 =28,5	3,42	*
1 – 4	9 – 12 = 3	3,42	n.s.
1 – 5	9 – 25 = 16	3,42	*
1 – 6	9 – 39,5 = 30,5	3,42	*
2 – 3	24 – 37,5 = 13,5	3,42	*
2 – 4	24 – 12 = 12	3,42	*
2 – 5	24 – 25 = 1	3,42	n.s.
2 – 6	24 – 39,5 = 15,5	3,42	*
3 – 4	37,5 – 12 = 25,5	3,42	*
3 – 5	37,5 – 25 = 12,5	3,42	*
3 – 6	37,5 – 39,5 = 2	3,42	n.s
4 – 5	12 – 25 = 13	3,42	*
4 – 6	12 – 39,5 = 27,5	3,42	*
5 – 6	25 – 39,5 = 14,5	3,42	*

n.s.: No significativo *: Significativo

ANEXO 24

ANALISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ADN GENÓMICO EN CÉLULAS BUCALES

24.1 ADN GENÓMICO DE CÉLULAS BUCALES DE JUECES SENSORIALES **ENTRENADOS**

Jueces sensoriales	ADN Total (µg)							
	Rep.1	Rep.2	Rep.3					
Juez 1 (1)	5,320	6,270	5,780					
Juez 2 (2)	4,595	3,365	4,940					
Juez 3 (3)	7,685	8,285	7,490					
Juez 4 (4)	7,450	8,050	9,505					
Juez 5 (5)	6,725	4,570	5,260					
Juez 6 (6)	12,51	14,285	14,555					
Juez 7 (7)	23,29	20,185	19,910					

24.2 ANÁLISIS DE VARIANZA DEL ADN GENÓMICO DE CÉLULAS BUCALES (Jueces del 1 al 7: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)

One-way ANOVA: ADN versus PANELISTAS

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values
PANELISTAS 7 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value PANELISTAS 6 643.27 107.212 91.90 0.000 Error 14 16.33 1.167 Total 20 659.60

Model Summary

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred) 1.08008 97.52% 96.46% 94.43% 94.43%

Means

PANELISTAS	N	Mean	StDev	95%	CI
1	3	5.787	0.473	(4.449;	7.124)
2	3	4.300	0.828	(2.963;	5.637)
3	3	7.820	0.414	(6.483;	9.157)
4	3	8.335	1.057	(6.998;	9.672)
5	3	5.518	1.100	(4.181;	6.856)
6	3	13.783	1.111	(12.446;	15.121)
7	3	21.13	1.88	(19.79;	22.47)

Pooled StDev = 1.08008

Fisher Pairwise Comparisons
Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

PANELISTAS	N	Mean	Grouping
7	3	21.13	A
6	3	13.783	В
4	3	8.335	С
3	3	7.820	С
1	3	5.787	D
5	3	5.518	D
2	3	4.300	D

ANEXO 25
FACTORES DE CORRELACIÓN ENTRE LAS PROPIEDADES DE LOS ALMIDONES DE QUINUA

Propiedades	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	Δ H (J / g)	P.Tem p. (°C)	P.Tim e (min)	PV (cP)	BD (cP)	SB (cP)	TR (cP)	FV (cP)	WHC (g agua/g almidón)	Firmeza del gel (gf)	Agua liberada 144h (%)	Tamaño (μm)	Cristalini -dad (%)
Almidón (%)	0.966	0.991	0.739		0.972	0.992	-0.653	-0.868	0.930	0.942	0.982	-0.980	-0.955	0.987	0.675	-0.837
Amilosa (%)	0.932	0.844			0.913	0.877	-0.954	-0.992	0.641	0.814	0.793	-0.725	-0.653	0.906	0.865	-1.000
Amilopectina (%)	-0.932	-0.844			-0.913	-0.877	0.954	0.992	-0.641	-0.814	-0.793	0.725	0.653	-0.906	-0.865	1.000
T _o (°C)	1	0.975			0.965	0.968	-0.796	-0.938	0.829	0.905	0.937	-0.902	-0.861	0.978	0.769	-0.931
T _p (°C)	0.975	1	0.715		0.966	0.971	-0.671	-0.857	0.929	0.896	0.961	-0.964	-0.938	0.977	0.654	-0.843
T _c (°C)		0.715	1	0.793	0.592	0.683			0.850	0.685	0.769	-0.846	-0.898	0.637		
$\Delta \mathbf{H} (\mathbf{J/g})$			0.793	1												
P.Temp. (°C)	0.965	0.966	0.592		1	0.975	-0.776	-0.920	0.893	0.894	0.933	-0.926	-0.869	0.984	0.728	-0.911
P.Time (min)	0.968	0.971	0.683		0.975	1	-0.698	-0.908	0.888	0.968	0.980	-0.960	-0.927	0.991	0.736	-0.870
PV (cP)	-0.796	-0.671			-0.776	-0.698	1	0.922		-0.613				-0.753	-0.823	0.958
BD (cP)	-0.938	-0.857			-0.920	-0.908	0.922	1	-0.663	-0.871	-0.828	0.760	0.700	-0.929	-0.875	0.988
SB (cP)	0.829	0.929	0.850		0.893	0.888		-0.663	1	0.797	0.895	-0.962	-0.952	0.886		-0.639
TR (cP)	0.905	0.896	0.685		0.894	0.968	-0.613	-0.871	0.797	1	0.959	-0.917	-0.902	0.940	0.742	-0.801
FV (cP)	0.937	0.961	0.769		0.933	0.980		-0.828	0.895	0.959	1	-0.980	-0.948	0.951	0.667	-0.786
WHC (g agua/g almidón)	-0.902	-0.964	-0.846		-0.926	-0.960		0.760	-0.962	-0.917	-0.980	1	0.982	-0.938		0.719
Firmeza del gel (gf)	-0.861	-0.938	-0.898		-0.869	-0.927		0.700	-0.952	-0.902	-0.948	0.982	1	-0.910		0.645
Agua liberada a 144h (%)	0.978	0.977	0.637		0.984	0.991	-0.753	-0.929	0.886	0.940	0.951	-0.938	-0.910	1	0.742	-0.901
Tamaño (μm)	0.769	0.654			0.728	0.736	-0.823	-0.875		0.742	0.667			0.742	1	-0.859
Cristalinidad (%)	-0.931	-0.843			-0.911	-0.870	0.958	0.988	-0.639	-0.801	-0.786	0.719	0.645	-0.901	-0.859	1

T_o (Temperatura de inicio on set), T_p (Temperatura pico), T_c (Temperatura final o conclusion), ΔH (J/g) (Entalpía de gelatinización)

P.Temp. (Temperatura de pegado), P.Time (Tiempo máximo o pico), PV (Viscosidad máxima), BD (Viscosidad de ruptura), SB (Viscosidad de restitución), TR (Viscosidad de caida) y FV (Viscosidad final).