



**UNIVERSIDAD
DEL AZUAY**

Facultad de Ciencia y Tecnología

Escuela de Ingeniería en Alimentos

**Optimización de las condiciones de germinación bajo
diferentes concentraciones de Na_2SeO_3 y su efecto sobre los
factores antinutrimientales presentes en granos de chocho
(*Lupinus Mutabilis*).**

Trabajo de grado previo a la obtención del título de:

INGENIERO EN ALIMENTOS

Autor:

ANDRÉS JESÚS RIERA VERDUGO

Director:

ING. MARCO LAZO, PhD

CUENCA, ECUADOR

2023

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de graduación a mis padres Isidro y Lucía por brindarme todo su apoyo para alcanzar todas mis metas y por ser a quienes deberé todo lo que alcance en vida. A mi hermano Alex por ser un ejemplo de esfuerzo y compromiso con la vida y sobre a todos que me acompañaron durante esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme la fortaleza y capacidad para culminar esta meta. Por darme a mi familia que me ha acompañado, aconsejado y apoyado, y gracias a la cuál debo las oportunidades que me han permitido llegar a donde estoy ahora.

Agradezco de todo corazón al Ingeniero Marco Lazó, por guiarme y ser el soporte para el desarrollo de este trabajo, y por sobre todo el compartirme sus conocimientos y experiencias durante mis estudios, incitándome a cada día dar lo mejor de mí a fin de mejorar constantemente como ser humano y como profesional.

También agradezco al Ingeniero Jonnatan Avilés y a la Doctora Webster por su contribución en este trabajo.

Igualmente agradezco al Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) por ayudarme con la aprobación del proyecto “Efectos de la germinación, nixtamalización y fermentación en la calidad nutricional de granos de *Lupinus* y *Sacha Inchi*” con número de trámite “MAATE-ARSFC-2022-2261”.

Asimismo, agradezco a la Universidad del Azuay, la Facultad de Ciencia y Tecnología, la Escuela de Ingeniería en Alimentos y a todos los docentes que han participado y contribuido con sus conocimientos y experiencias en mi formación académica, ética y personal.

Por último, quiero agradecer a todas las personas que formaron parte de mi vida universitaria, principalmente a mis amigos “Hacheros” con quienes he vivido increíbles momentos, anécdotas, inolvidables experiencias y que me han ayudado a entender lo maravillosa que es la vida.

Optimización de las condiciones de germinación bajo diferentes concentraciones de Na_2SeO_3 y su efecto sobre los factores antinutrimientales presentes en granos de chocho (*Lupinus Mutabilis*).

RESUMEN

Las condiciones óptimas de germinación de granos de chocho (*Lupinus mutabilis*) se determinaron aplicando 3 tiempos de germinación y 3 concentraciones de Na_2SeO_3 , a través de un diseño factorial 2^2 con seis puntos centrales, para obtener harinas cuyo contenido antinutricional fue analizado. Los resultados determinaron que el tiempo de germinación es la variable que más antinutrientes disminuyó en las muestras analizadas. Mientras que la concentración de Na_2SeO_3 solo es relevante para el estudio de azúcares flatulentas. El tratamiento con 48 horas con 5 mg/L de Na_2SeO_3 es el que más reduce los antinutrientes con excepción de la actividad ureasa.


Palabras clave: germinación, diseño experimental, chocho, *Lupinus mutabilis*, selenio.



Marco Antonio Lazo Vélez
Director de tesis



María Fernanda Rosales Medina
Coordinadora de escuela



Andrés Jesús Riera Verdugo

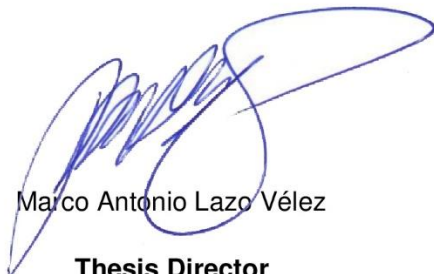
Autor

Optimization of germination conditions under different concentrations of Na_2SeO_3 and its effect on the anti-nutritional factors present in chocho (*Lupinus Mutabilis*).


ABSTRACT

The optimal germination conditions of chocho seeds (*Lupinus mutabilis*) were determined by applying 3 germination times and 3 concentrations of Na_2SeO_3 , through a factorial design 2^2 with six central points, to obtain flours whose antinutritional content was analyzed. The results determined that germination time is the variable that decreased the most antinutrients in the analyzed samples. Whereas Na_2SeO_3 concentration is only relevant for the study of flatulent sugars. The treatment with 48 hours with 5 mg/L of Na_2SeO_3 is the one that reduces most of the antinutrients except for the urease activity.


Keywords: germination, experimental design, chocho, *Lupinus mutabilis*, selenium.



Marco Antonio Lazo Vélez
Thesis Director



María Fernanda Rosales Medina
Food Engineering Faculty Coordinator



Andrés Jesús Riera Verdugo
Author



Translated by:



Andrés Riera

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO 1	11
MATERIALES Y MÉTODOS	11
1.1. Materia prima.....	11
1.2. Determinación del grado de hidratación del grano en remojo	11
1.3. Germinación de granos de chocho (<i>Lupinus mutabilis</i>).....	11
1.4. Análisis fisicoquímicos:.....	12
1.5. Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico.....	12
CAPÍTULO 2	13
RESULTADOS Y DISCUSIONES	13
2.1. Influencia de los parámetros de germinación en los factores de viabilidad de los granos	13
2.3. Análisis fisicoquímicos.....	15
CONCLUSIONES	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
ANEXOS	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de semillas de chocho germinadas bajo distintas concentraciones de Na_2SeO_3	14
Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas de chocho con ausencia de Na_2SeO_3	15
Tabla 3. Efectos de la germinación con distintas concentraciones de Na_2SeO_3 en el contenido de factores antinutrimientales de granos de chocho en diseño experimental	19
Tabla 4. Contenido de factores antinutrimientales en muestra control	20

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de granos de chocho en distintos tiempos de germinación	14
Figura 2. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas y sus interacciones en contenido de alcaloides.....	16
Figura 3. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas y sus interacciones en contenido de Azúcares flatulentas	17
Figura 4. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas y sus interacciones en el contenido de Ácido fítico	18
Figura 5. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas y sus interacciones en contenido de Actividad Ureasa.....	19
Figura 6. Gráfico de optimización de las condiciones de germinación en presencia de Na_2SeO_3 para minimizar el contenido de antinutrientes.....	21

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Niveles codificados para las variables independientes usadas en la experimentación	28
Anexo 2. Porcentaje de semillas de chocho germinadas bajo distintas concentraciones de Na_2SeO_3	28
Anexo 3. Ecuaciones polinómicas reducidas y parámetros estadísticos utilizando el diseño experimental factorial	29
Anexo 4. Resultados de factores antinutrimientales de granos de chocho germinados en distintas concentraciones de Na_2SeO_3 en el diseño experimental	30
Anexo 5. Evolución de granos de muestra control germinados en ausencia de Na_2SeO_3 ...	31
Anexo 6. Desarrollo del crecimiento de la raicilla y dimensiones de la muestra control de los granos de chocho.....	31
Anexo 7. Evolución de granos de chocho germinados en concentración de 5 mg/L de Na_2SeO_3	32
Anexo 8. Desarrollo del crecimiento de la raicilla y dimensiones de los granos de chocho germinados con 5 mg/L de Na_2SeO_3	32
Anexo 9. Evolución de granos de chocho germinados en concentración de 20 mg/L de Na_2SeO_3	33
Anexo 10. Desarrollo del crecimiento de la raicilla y dimensiones de los granos de chocho germinados con 20 mg/L de Na_2SeO_3	33
Anexo 11. Evolución de granos de chocho germinados en concentración de 20 mg/L de Na_2SeO_3	34
Anexo 12. Desarrollo del crecimiento de la raicilla y dimensiones de los granos de chocho germinados con 35 mg/L de Na_2SeO_3	34
Anexo 13. Aprobación otorgada por el MAATE para investigación científica	35
Anexo 14. Extractos para la determinación de alcaloides de muestras de granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	36
Anexo 15. Titulación de extractos de alcaloides de muestras de granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	36
Anexo 16. Almacenamiento de harinas obtenidas a partir de granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	36
Anexo 17. Determinación de unidades pH para medir actividad ureasa en muestras de granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	37
Anexo 18. Pesado de muestras para determinación de actividad ureasa en granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	37
Anexo 19. Extractos para la determinación de ácido fítico en granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	37
Anexo 20. Extracción para la determinación de azúcares flatulentas de granos de chocho germinados en presencia de Na_2SeO_3	38

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamns, C. A., & Rinne, R. W. (1980). Moisture Content as a Controlling Factor in Seed Development and Germination. *International Review of Cytology*, 68(1), 1-8. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)62305-0](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62305-0)
- Akahoshi, N., Anan, Y., Hashimoto, Y., Tokoro, N., Mizuno, R., Hayashi, S., . . . Ishii, I. (2019). Dietary selenium deficiency or selenomethionine excess drastically alters organ selenium contents without altering the expression of most selenoproteins in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 69(1), 120-129. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.03.020>
- Avery, J., & Hoffman, P. (2018). Selenium, Selenoproteins, and Immunity. *Nutrients*, 10(9), 1203. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/nu10091203>
- Carlson, C. L., Kaplan, D. I., & Adriano, D. C. (1989). Effects of selenium on germination and radicle elongation of selected agronomic species. *Environmental and Experimental Botany*, 29(4), 493-498. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(89\)90028-2](https://doi.org/10.1016/0098-8472(89)90028-2)
- Carvajal-Larenas, F., Linnemann, A., Nout, M., Koziol, M., & van Boekel, M. (2016). Lupinus mutabilis: Composition, Uses, Toxicology and Debittering. *Food Science and Nutrition*, 56(9), 1454-1487. Obtenido de <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772089>
- Chilomer, K., Kasprowicz-Potocka, M., Gulewicz, P., & Frankiewicz, A. (2012). The influence of lupin seed germination on the chemical composition and standardized ileal digestibility of protein and amino acids in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(4), 639-646. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01304.x>
- Chilomer, K., Zaleska, K., Ciesiolka, D., Gulewicz, P., Frankiewicz, A., & Gulewicz, K. (2010). Changes in the alkaloid, α -galactoside and protein fractions content during germination of different lupin species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 79(1), 11-20. Obtenido de <https://doi.org/10.5586/asbp.2010.002>
- Cordero-Clavijo, L. M., Serna-Saldívar, S. O., Lazo-Vélez, M. A., Avilés-Gonzales, J. F., Panata-Saquicilí, D., & Briones-García, M. (2021). Characterization, functional and biological value of protein-enriched defatted meals from sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) and chocho (*Lupinus mutabilis*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(15), 5071-5077. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01084-5>
- De Cortes Sánchez, M., Altares, P., Pedrosa, M. M., Burbano, C., Cuadrado, C., Goyoaga, C., . . . Dávila-Ortiz, G. (2005). Alkaloid variation during germination in different lupin species. *Food Chemistry*, 90(3), 347-355. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.008>

- Frias, J., Diaz-Pollan, C., Hedley, C. L., & Vidal-Valverde, C. (1996). Evolution and kinetics of monosaccharides, disaccharides and alpha-galactosides during germination of lentils. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, *202*, 35-39. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/bf01229681>
- Frias, J., Gulewicz, P., Martínez-Villaluenga, C., Pilarski, R., Blazquez, E., Jiménez, B., . . . Vidal-Valverde, C. (2009). Influence of Germination with Different Selenium Solutions on Nutritional Value and Cytotoxicity of Lupin Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(4), 1319-1325. Obtenido de <https://doi.org/10.1021/jf8028368>
- Fritsch, C., Vogel, R. F., & Toelstede, S. (2015). Fermentation performance of lactic acid bacteria in different lupin substrates-influence degradation ability of antinutritives and secondary plant metabolites. *Journal of Applied Microbiology*, *119*(4), 1075-1088. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/jam.12908>
- Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Chapter 24 - Protein-Selenized Enriched Breads. En V. R. Preedy, & R. Watson, *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention (Second Edition)* (págs. 307-317). Academic Press. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00024-1>
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S., Cuevas-Rodríguez, E., Jacobo-Velázquez, D., & Gutiérrez-Urbe, J. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, *226*(1), 69-74. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.046>
- Hung, P., Maeda, T., Yamamoto, S., & Morita, N. (2012). Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(3), 667-672. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/jsfa.4628>
- INEN. (2004). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2390:2004. Leguminosas. Grano desamargado de chocho. Requisitos. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2390.pdf>
- Karnpanit, W., Coorey, R., Clements, J., Nasar-Abbas, S. M., Khan, M. K., & Jayasena, V. (2016). Effect of cultivar, cultivation year and dehulling on raffinose family oligosaccharides in Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, *51*(6), 1386-1392. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/ijfs.13094>
- Khattak, A. B., Zeb, A., Bibi, N., Khalil, S. A., & Khattak, M. S. (2007). Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, *104*(3), 1074-1079. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.022>

- Knudsen, K. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science Technology*, 67(4), 319-338. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00009-6)
- Lazo-Vélez, M. A., Avilés-González, J., Serna-Saldivar, S. O., & Temblador-Pérez, M. C. (2016). Optimization of wheat sprouting for production of selenium enriched kernels using response surface methodology and desirability function. *LWT - Food Science and Technology*, 65(1), 1080-1086. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.056>
- Lazo-Vélez, M. A., Chávez-Santoscoy, A., & Serna-Saldivar, S. O. (2014). Selenium-Enriched Breads and Their Benefits in Human Nutrition and Health as Affected by Agronomic, Milling and Baking Factors. *Cereal Chemistry*, 99(5), 134-144. Obtenido de <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-14-0110-RW>
- Lazo-Vélez, M. A., Garzón, R., Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S. O., & Rosell, C. M. (2021). Selenized chickpea sourdoughs for the enrichment of breads. *LWT - Food Science and Technology*, 150(1). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112082>
- Lazo-Vélez, M. A., Guajardo-Flores, D., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2015). Characterization and Quantification of Triterpenoid Saponins in Raw and Sprouted *Chenopodium berlandieri* spp. (Huauzontle) Grains Subjected to Germination with or without Selenium Stress Conditions. *Journal of Food Science*, 81(1), 19-26. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13174>
- Lazo-Vélez, M. A., Guardado-Félix, D., Avilés-González, J., Romo-López, I., & Serna-Saldivar, S. O. (2018). Effect of germination with sodium selenite on the isoflavones and cellular antioxidant activity of soybean (*Glycine max*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 93, 64-70. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.060>
- Levine, V. E. (1925). The effect of selenium compounds upon growth and germination plants. *American Journal of Botany*, 12(2), 82-90. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/J.1537-2197.1925.TB05817.X>
- Lintschinger, J., Fuchs, N., Moser, J., Kuehnelt, D., & Goessler, W. (2000). Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5362-5368. Obtenido de <https://doi.org/10.1021/jf000509d>
- Martínez-Villaluenga, C., Zieliński, H., Frias, J., Piskula, M. K., Kozłowska, H., & Vidal-Valverde, C. (2009). Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products. *Food Chemistry*, 112(1), 84-88. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.040>

- NIH. (16 de Marzo de 2021). (*National Institutes of Health*). Recuperado el 8 de Mayo de 2021, de Selenium: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/#en1>
- Ožbolt, L., Kreft, S., Kreft, I., Germ, M., & Stibilj, V. (2008). Distribution of selenium and phenolics in buckwheat plants grown from seeds soaked in Se solution and under different levels of UV-B radiation. *Food Chemistry*, *110*(3), 691-696. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.073>
- Rodríguez-Blanco, L., Lucas-Florentino, B., Miranda-Cruz, E., & Guerrero-Olazarán, M. (2018). Contenido de Ácido Fítico y Fósforo Inorgánico en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* Germinadas a Diferentes Temperaturas. *Información Tecnológica*, *29*(3), 39-46. Obtenido de <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000300039>
- Romero-Espinoza, A., Serna-Saldivar, S., Vintimilla-Alvarez, M., Briones-García, M., & Lazo-Vélez, M. (2020). Effects of fermentations with probiotics on anti-nutritional factors and proximate composition of lupin (*Lupinus mutabilis* sweet). *LWT-Food Science and Technology*, *130*(1). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109658>
- Serna-Saldivar, S. O. (2010). *Grain Development, Morphology and Structure. In Cereal Grains: Properties, Processing and Nutritional Attributes*. (Primera ed.). CRC Press. Obtenido de <https://doi.org/10.1201/9781439882092>
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, *258*(1), 290-295. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.137>
- Shreenath, A., Ameer, M., & Dooley, J. (11 de Febrero de 2021). *Selenium Deficiency*. Obtenido de StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482260/>
- Stabnikova, O., Antoniuk, M., Stabnikov, V., & Arsen'eva, L. (2019). Ukrainian Dietary Bread with Selenium-Enriched Soya Malt. *Plant Foods for Human Nutrition*, *74*(1), 157-163. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00731-z>
- Tarzi, B., Gharachorloo, M., Baharinia, M., & Mortazavi, S. (2012). The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, *11*(4), 1137-1143. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3813166/>
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sierra, I., Blazquez, I., Lambein, F., & Kuo, Y.-H. (2002). New functional legume foods by germination: effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *European Food Research and Technology*, *215*(1), 472-477. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0602-2>

- Villacrés, E., Quelal, M. B., Jácome, X., Cueva, G., & Rosell, C. M. (2020). Effect of debittering and solid-state fermentation processes on the nutritional content of lupine (*Lupinus mutabilis* sweet). *International Journal of Food Science and Technology*, *55*(6), 2589-2598. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/ijfs.14512>
- Villacrés, E., Quelal, M., Fernández, E., García, G., Cueva, G., & Rosell, C. (2020). Impact of debittering and fermentation processes on the antinutritional and antioxidant compounds in *Lupinus mutabilis* sweet. *LWT - Food Science and Technology*, *131*(1). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109745>
- Zhao, S., Zhang, L., Gao, P., & Shao, Z. (2009). Isolation and characterization of the isoflavones from sprouted chickpea seeds. *Food Chemistry*, *114*(3), 869-873. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.026>