

Optimización del método de extracción para el análisis de ácido fítico en granos de quinoa. Efectos de los minerales

R. Amaro¹, L. Rodrigues¹ y J. Salas²

¹Laboratorio de Métodos Cromatográficos, Centro de Química Analítica.
Escuela de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela (UCV).
Apartado 47102. Código Postal 1041-A, Caracas, Venezuela.

²Laboratorio de Espectrometría de Masas, Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Apartado Postal 21827, Caracas-1020-A, Venezuela.

*Optimization of the extraction method for the determination of phytic acid in quinoa seeds.
Minerals effects*

*Optimització del mètode d'extracció per a l'anàlisi d'àcid fític en grans de quinoa.
Efectes dels minerals*

RECEIVED: 7 MARCH 2019; REVISED: 30 JULY 2019; ACCEPTED: 3 SEPTEMBER 2019

SUMMARY

This paper focused on the problems associated with the determination of phytic acid in quinoa seeds, mainly originated by the presence of insoluble salts that affect the recovery factor of the traditional method. Results show that applying a non-optimized extraction method for quinoa grains, gives phytic acid recovery about 54 %; this results contrast significantly with the 82% obtained with wheat. The main difference is associated with the high content of minerals like Ca and Fe. Quinoa has 69.7 mg/100 g Ca and 8.6 mg/100g Fe. On the other hand, wheat has 33.3 mg/100g Ca and 3.8 mg/100g Fe. It was used a factorial design 2³ in the optimization process. It was noticeable that increasing the extraction time from of 2 to 4 hours, improves the recovery acid phytic regardless of both, the type of acid (HCl 0.5 M and trichloroacetic acid (TCA) 0.6 M) and extraction system (mechanical or ultrasound). Finally, the new optimized method for quinoa allows recoveries of phytic acid between 82 to 85%.

Keywords: Phytic acid, recovery, quinoa seeds, determination, minerals effect.

RESUMEN

Este trabajo está enfocado en los problemas asociados con la determinación del ácido fítico en granos de quinoa, producto de la formación de sales insolubles que afectan los % de recuperación del método de análisis. Se observa que aplicando un método de

extracción sin optimizar para granos de quinoa, se obtienen recuperaciones del ácido fítico en un 54 % con respecto al trigo, que fue del 82%. La diferencia entre estas muestras es el alto contenido de minerales como Ca y Fe de 69,7 y 8,6 mg/100g para la quinoa y de 33,3 y 3,8 mg/100g para el trigo, respectivamente. Durante el proceso de optimización del método de extracción, utilizando un diseño factorial 2³, se encontró que el aumento del tiempo de extracción de 2 a 4 horas, logra mejorar la concentración de ácido fítico indiferentemente del tipo de ácido (HCl 0,5 M y ácido tricloroacético (TCA) 0,6 M) y sistema de extracción (mecánica o ultrasonido) empleado. Con las variables de extracción optimizadas para la muestra de quinoa, se logra una mejora significativa en la recuperación del ácido fítico con valores entre 82 a 85 %.

Palabras claves: ácido fítico, recuperación, granos de quinoa, determinación, efecto de los minerales

RESUM

Aquest treball està enfocat en els problemes associats amb la determinació de l'àcid fític en grans de quinoa, producte de la formació de sals insolubles que afecten els % de recuperació del mètode d'anàlisi. S'observa que aplicant un mètode d'extracció sense optimitzar per grans de quinoa, s'obtenen recuperacions de l'àcid fític en un 54% respecte al blat, que va ser del 82%. La diferència entre aquestes mostres és

*Corresponding autor:rosa.amaro@ciens.ucv.ve

l'alt contingut de minerals com Ca i Fe de 69,7 i 8,6 mg / 100g per a la quinoa i de 33,3 i 3,8 mg / 100g pel blat, respectivament. Durant el procés d'optimització del mètode d'extracció, utilitzant un disseny factorial 2³, es va trobar que l'augment del temps d'extracció de 2 a 4 hores, aconsegueix millorar la concentració d'àcid fític indiferentment del tipus d'àcid (HCl 0,5 M i àcid tricloroacètic (TCA) 0,6 M) i sistema d'extracció (mecànic o ultrasò) empleat. Amb les variables d'extracció optimitzades per a la mostra de quinoa, s'aconsegueix una millora significativa en la recuperació de l'àcid fític amb valors entre 82 a 85%.

Paraules clau: Àcid fític, recuperació, grans de quinoa, determinació, efecte dels minerals.

INTRODUCTION

La quinoa se considera un pseudo-cereal, tanto por razones botánicas como por su inusual composición. Estos granos tienen un mayor valor nutritivo que los cereales tradicionales, teniendo alto contenido de carbohidratos, principalmente de almidón (50-60%) que hace que se emplee como un cereal, sin embargo, su contenido de grasas y proteínas es más alto que la de la mayoría de los cereales. También su contenido en vitaminas y aminoácidos es superior. Así mismo, el grano de la quinoa tiene mayor contenido mineral, siendo el calcio, hierro y zinc mucho más alto que en la mayoría de los cereales comunes ^{1,2}.

Debido a su riqueza nutricional y por su versatilidad de cultivo, la quinoa ha sido seleccionada por la FAO como cultivo promisorio de la humanidad para contribuir a la seguridad alimentaria ².

Por otro lado, en la capa externa del grano está presente la saponina que da sabor amargo al mismo y que debe ser eliminado por remojo o mediante procesos industriales. Así mismo, la quinoa contiene ácido fítico (myo-inositol hexafosfato) que puede unirse a minerales como el calcio, hierro y zinc disminuyendo su absorción y aprovechamiento por el cuerpo humano. El ácido fítico (AF) disminuye también la absorción de la niacina. Por todo esto, el ácido fítico se considera un anti-nutriente muy especialmente en personas con un consumo bajo de minerales esenciales, pudiendo ocurrir con mayor frecuencia en los países en desarrollo ^{2,3}.

El efecto potencialmente perjudicial del ácido fítico ha conducido al desarrollo de un gran número de métodos para medir su contenido real en alimentos. Dado que el ácido fítico no tiene un espectro de absorción característico y, por tanto, no existen reactivos específicos para su identificación, su determinación ha constituido un problema analítico durante mucho tiempo ³.

El estudio de la disponibilidad de ciertos minerales en presencia del ácido fítico en cereales, leguminosas y quinoa, ha sido bien documentado por algunos autores, resaltando la influencia de la relación fitato/metal sobre esta disponibilidad ^{1,4,5}. Se ha reportado también que esta relación puede afectar el método de

análisis para aquellos casos en que el tratamiento de muestra no evite la formación del complejo fitato/metal durante la extracción con muestras de alto contenido de minerales ^{6,7}.

Considerando el alto contenido mineral de la quinoa, en este trabajo se evaluó la influencia de los minerales como Ca, Fe y Zn sobre los % de recuperación del ácido fítico utilizando un método de análisis comúnmente aplicado para cereales, de manera tal de demostrar la existencia de problemas en la cuantificación de AF en este tipo de muestra y realizar los correctivos pertinentes para la mejora del método. En este estudio se utilizó el trigo como cereal de prueba para la comparación del método de análisis entre muestras diferentes.

MATERIALES Y METODOS

Materiales y reactivos.

Los estándares de ácido fítico fueron preparados a partir de la sal di-potásica del ácido fítico al 95 % p/p de la casa Aldrich Chemical Co. La pureza de esta sal fue corroborada con el análisis elemental de fósforo en un ICP-OES. Las soluciones estándares de Ca, Fe y Zn fueron adquiridas de BDH Laboratory Reagents Company. El ácido clorhídrico al 37% p/p, ácido nítrico 65 % p/p y la sal de ácido tricloroacético al 99,0 % p/p fueron suministrados por Aldrich Chemical Co. Los cartuchos Sep-Pack NH2 fueron adquiridos en Millipore Corporation. Para las preparaciones de las muestras y estándares se utilizó agua desionizada de 18 MΩ/cm.

METODOLOGÍA.

Recolección de muestras y preparación.

Las muestras de quinoa (A y B, procedencia Ecuatoriana y Venezolana, respectivamente) y trigo (trigo partido #1) fueron adquiridas en un mercado popular de la Gran Caracas entre los años 2016-2017. En el caso de las muestras de quinoa fueron molidas en un molino de bolas modelo Spex 8000 D MIXER/MILL por quince minutos, generando partículas con tamaño promedio de partícula de 1,2 micrómetros. A las muestras de quinoa se les eliminó las saponinas; para ello las muestras fueron remojadas por 24 h, se descartó el agua de remojo y posteriormente, se dejó secar a temperatura ambiente por 1 día. La eliminación de la humedad de las muestras se realizó de dos formas. A aquellas muestras que se les determinó el contenido de Ca, Fe y Zn, se midió su contenido de humedad por secado en estufa a 100 °C por 24 horas. Mientras que las muestras dirigidas al análisis de ácido fítico fueron secadas por liofilización para evitar la degradación del AF. En el caso de las muestras de trigo, una vez secadas por liofilización fueron molidas en un mortero de cerámica y pasadas por un tamiz de 200 mesh. Todas las muestras fueron colocadas en bolsas Zic-Pack y guardadas en un desecador hasta su análisis.

Análisis por FAAS:

Para determinar el efecto de los minerales sobre la recuperación del ácido fítico en quinoa, se cuantificó el contenido de Ca, Fe y Zn, tanto en la muestra de quinoa como en la de trigo. El trigo fue utilizado como cereal de referencia para el control del método de análisis.

Para este estudio, se tomaron tres réplicas de cada muestra y se convirtieron en cenizas de color gris claro por calentamiento en la mufla a 450 °C, durante 48 horas aproximadamente. En el transcurso de la calcinación (a las 24 horas), se añadieron unas gotas de ácido nítrico al 65% p/p para disolver el carbón libre presente y se continuó con el proceso de calcinado. Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se disolvieron en 8 mL de HCl al 37% p/p; finalmente, se trasvasaron a balones aforados y se enrasaron con agua destilada al volumen correspondiente. La concentración de Ca, Fe y Zn fue determinada en estas soluciones usando un espectrómetro de absorción atómica de llama (FAAS en sus siglas en inglés) marca GBC Avanta. En este estudio, se utilizó una llama de acetileno-aire y para la determinación de calcio se agregó 10.000 mgL⁻¹ de lantano, tanto en las muestras como en los patrones para evitar la formación de compuestos de baja volatilidad que son estables en esta tipo de llama.

Análisis de ácido fítico por fotometría molecular:

Para la extracción del ácido fítico, se partió del método de extracción propuesto por Carlsson y col. en el año 2001⁸, que fue usado por estos autores para el análisis de muestras de cereales y, posteriormente, en 2015⁵ para el análisis de AF en quinoa y otros cereales. En el caso de la determinación de la concentración de AF en las muestras estudiadas, se empleó el análisis fotométrico con reactivo de Wade propuesto por Latta y Eskin en 1980⁹. Este análisis solo puede ser utilizado para cereales no procesados, debido a que los cereales procesados pueden tener presencia de inosítoles de menor grupo fosfato producto de la degradación del AF, pudiendo generar una sobre estimación del mismo¹⁰. Es de indicar que para el caso de cereales procesados, se recomienda el análisis con sistemas de separación por HPLC¹¹ o HPIC^{5,8}. También es importante destacar que cuando se utilizan detectores no selectivos como los fotómetros o índice de refracción, se requiere el uso de un paso adicional de purificación de muestra para aislar el ácido fítico de la matriz, así como la posterior eliminación de la matriz ácida. En función de lo antes dicho, se destacan a continuación los pasos seguidos para la cuantificación del ácido fítico en este trabajo:

a.- Paso de extracción. Siguiendo la metodología de extracción propuesta por Carlsson y col.⁸, se pesan 0,5 g de muestra se agregan 8 mL de HCl 0,5 M, se agita mecánicamente por 3 horas y, finalmente, se centrifuga la muestra a 3400 rpm a 20 °C por 10 min. Estos autores

toman el sobrenadante directamente para su análisis. En nuestro caso, este sobrenadante es decantado a un frasco volumétrico de 25 mL y el residuo es lavado con 5 mL adicionales de la solución de HCl 0,5 M. Este segundo extracto es centrifugado y el sobrenadante es combinado con el primero, para luego ser llevado todo a un volumen final de 25 mL con agua desionizada¹¹.

b.- Paso de purificación. Una alícuota de la solución anterior, previamente filtrada con un filtro de nylon de 0,45 µm, es diluida en 50 mL de agua y pasada por un cartucho Sep-Pack NH2 con la ayuda de una jeringa desechable. Seguidamente, se hace el lavado del cartucho con una solución de 0,05 M de HCl y, finalmente, el AF retenido es eluido del cartucho usando 5 mL de HCl 2,0 M. El eluyente es colectado en un balón volumétrico de 25 mL y llevado a enrase.

c.- Paso de cuantificación. A una alícuota de la solución anterior, se le ajusta el pH a 2,10 con una solución de NaOH 2,0 M; seguidamente, se agrega 1 mL reactivo de Wade (0,05 % p/v FeCl₃ + 0,3 % p/v ácido sulfosalicílico) y se enrasa a 10 mL. A esta solución se le midió la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Electron Corporation modelo Nicolet Evolution 300, a una longitud de onda de 500 nm. El mismo proceso de formación de color se siguió con los patrones de AF. Las concentraciones de trabajo fueron entre 5 a 15 ppm de ácido fítico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para la concentración de metales y ácido fítico, tanto en quinoa como en el trigo; así mismo, se muestra la recuperación AF en ambas muestras cuando es utilizado parte del tratamiento de muestra propuesto por Carlsson y col.⁸ y el análisis del ácido fítico por el método fotocolorimétrico con reactivo de Wade. Como se puede apreciar, se obtienen recuperaciones del 82 % de AF en el trigo, mientras que para la quinoa es solo del 54 %, siendo este último un valor muy bajo, lo que indica que el método es poco exacto para el análisis de AF en quinoa a diferencia del trigo. En esta tabla se puede visualizar también una marcada diferencia entre las concentración Ca y Fe para la quinoa con respecto al trigo. En el caso del Zn ambas muestras presentaron concentraciones similares. Este fenómeno de baja recuperación ha sido observado también en muestras de cereales infantiles que presentan un alto contenido de minerales^{6,7}.

En la figura 1 se muestra un diagrama de bloques de todas las etapas a seguir para el análisis de ácido fítico con el método fotocolorimétrico con reactivo de Wade. A diferencia del método propuesto por Carlsson y col.⁸, que solo requiere tres etapas para el análisis, en el método fotocolorimétrico se requie-

ren cinco etapas. Las etapas 3 y 4 están relacionadas con la purificación y eliminación de la acidez del medio previo al análisis. En cada una de estas etapas se pueden generar pérdidas del analito de interés y, por tanto, puede disminuir el porcentaje de recuperación, mientras más etapas están involucradas en el tratamiento de muestra mayor puede ser la pérdida del analito. Se ha observado que los pasos combinados de purificación y rota-evaporación pueden generar pérdidas de hasta un 15 % de AF¹². Esto permite explicar la recuperación del 82 % para el ácido fítico obtenido para el trigo, pero no la recuperación del 54 % generada en la quinoa, por lo que esta baja recuperación debe estar asociada al propio proceso de extracción del analito de interés en la quinoa.

Tabla 1. Resultados de concentración de Ca, Fe y Zn, ácido fítico y % de recuperación de ácido fítico en muestras de trigo y quinoa usando el método de extracción para cereales propuesto por Carlsson y col.⁸ y determinación de AF por fotolorimetría con reactivo de Wade. Los resultados mostrados son el promedio de tres medidas con su desviación estándar.

Muestra	Ca (mg /100 g)	Fe (mg /100 g)	Zn (mg /100 g)	AF (mg /100 g)	% recuperación AF
Trigo	33,3 ± 0,5	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,3	1,01 ± 0,02	80 ± 2
Quinoa A	70 ± 2	8,6 ± 0,3	3,80 ± 0,02	1,20 ± 0,03	54 ± 2

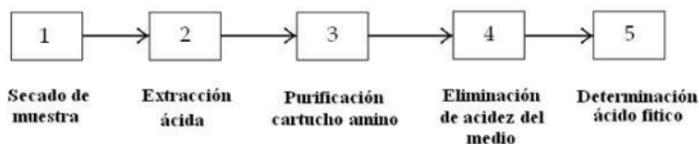


Figura 1. Diagrama de bloques de las etapas necesarias para el análisis de ácido fítico en cereales con el método fotolorimétrico con reactivo de Wade.

Optimización del paso de extracción con diseño estadístico.

El diseño estadístico aplicado para la optimización del paso de extracción fue un diseño factorial 2³. Las variables evaluadas fueron A: tipo de ácido (- ácido clorhídrico (HCl) y + ácido tricloroacético (TCA)), B: tipo de extracción (- agitación con ultrasonido y + agitación mecánica) y C: tiempo de extracción (- 2 horas y + 4 horas). La matriz experimental de este diseño se presenta en la tabla 2. Es de indicar que se partió del tiempo de extracción de 2 horas porque es el tiempo comúnmente utilizado con el ultrasonido para muestras de cereales^{11, 13}.

Para evaluar el efecto de las variables sobre el sistema, se empleó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus para WINDOWS versión 1.4. En el proceso de extracción, se fijó la concentración de ácido en 0,5 M para HCl y 0,6 M para TCA. El volumen de ácido empleado para la extracción fue de 8 mL y el peso de muestra seleccionado para la aplicación del diseño fue de 0,5 g.

En la figura 2 se presenta el Diagrama de Pareto para la determinación de las variables significativas para la extracción de ácido fítico en quinoa, donde se puede visualizar el efecto cada variable. Si los valores superan el límite de significación es indicativo que el efecto de la variable es importante; adicionalmente, el signo observado en el gráfico indica el valor de la variable favorecida. Es así que para el caso del tiempo de extracción, este supera el límite de significación y es la variable más importante de todo el sistema para la extracción del ácido fítico en la quinoa. El signo + indica que la mejor respuesta está en el tiempo de extracción de 4 horas. También se observa una interacción de segundo orden importante (AC) que involucra el tipo de ácido y tiempo de extracción. Para establecer los valores que deben tomar las variables que interactúan, para generar la mayor respuesta, se elaboró el diagrama de interacciones mostrado en la figura 3, observando en el mismo que la mayor respuesta se tiene con los niveles -A= HCl y + C= 4 horas, recordando que A corresponde a tipo de ácido (- ácido clorhídrico (HCl) y + ácido tricloroacético (TCA)), B es el tipo de extracción (- agitación con ultrasonido y + agitación mecánica) y C es el tiempo de extracción (- 2 horas y + 4 horas).

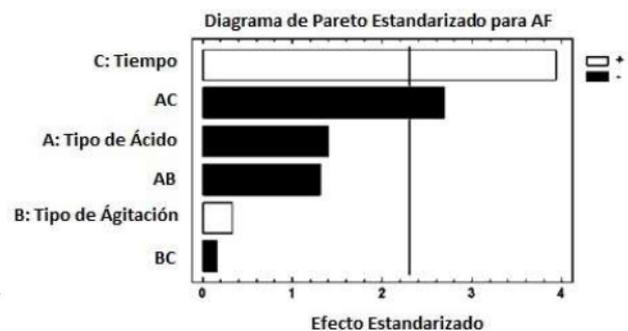


Figura 2. Diagrama de Pareto para los efectos estandarizados sobre % de AF en muestras de quinoa.

DIAGRAMA AC

	Factor A		
	+		
Factor C	1,19	1,28	Factor C
	1,09	1,59	
	-		

Figura 3. Diagrama de interacciones AC para el estudio de quinoa.

En la Figura 4 se presenta el Diagrama de Pareto para la determinación de las variables significativas para la extracción del ácido fítico en el trigo. En este gráfico se puede observar que las variables que tienen un mayor efecto sobre la respuesta son el tiempo de extracción y el tipo de ácido. El signo positivo en ambas variables indica que la mayor respuesta se obtiene para 4 horas de extracción y con el uso de ácido tricloroacético.

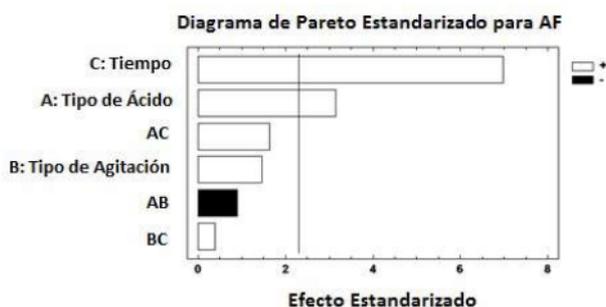


Figura 4. Diagrama de Pareto para los efectos estandarizados sobre % de AF en muestras de trigo.

Uno de los resultados más relevantes observados en estos diseños es que el tiempo de extracción es significativo sin importar el tipo de sistema de extracción y muestra utilizada. En general, se espera que los sistemas de ultrasonido sean más eficientes para extraer el analito de interés, por la capacidad de las ondas sónicas de penetrar en la estructura interna de la muestra, no requiriendo, en teoría, altos tiempos de extracción en comparación a los sistemas mecánicos. Aun así se encuentra que se requiere alto tiempo de extracción, tanto en el sistema de ultrasonido como en la agitación mecánica en estas muestras. Esto puede deberse a que el problema no radica en la capacidad de extraer el ácido fólico de la estructura del grano, sino en la capacidad de disolver las sales insolubles formadas por el ácido fólico, necesitando en ambos casos un mayor tiempo de extracción.

Tabla 2. Matriz del diseño de experimento 2^3 para la extracción de ácido fólico (AF) en muestras de quinoa. La respuesta del diseño es % p/p de ácido fólico. Las siglas TCA corresponde al ácido tricloroacético.

Experimentos	Código (real)			% AF	
	Tipo de ácido	Tipo de extracción	Tiempo (horas)	Quinoa	Trigo
	A	B	C		
1	-1 (HCl)	-1 (Ultrasonido)	-1 (2)	1,06	0,84
2	+1 (TCA)	-1 (Ultrasonido)	-1 (2)	1,22	0,88
3	-1 (HCl)	+1 (Mecánica)	-1 (2)	1,15	0,86
4	+1 (TCA)	+1 (Mecánica)	-1 (2)	1,19	0,88
5	-1 (HCl)	-1 (Ultrasonido)	+1 (4)	1,38	0,88
6	+1 (TCA)	-1 (Ultrasonido)	+1 (4)	1,30	1,07
7	-1 (HCl)	+1 (Mecánica)	+1 (4)	1,49	0,92
8	+1 (TCA)	+1 (Mecánica)	+1 (4)	1,38	1,10
9	-1 (HCl)	-1 (Ultrasonido)	-1 (2)	1,04	0,83
10	+1 (TCA)	-1 (Ultrasonido)	-1 (2)	1,15	0,89
11	-1 (HCl)	+1 (Mecánica)	-1 (2)	1,10	0,90
12	+1 (TCA)	+1 (Mecánica)	-1 (2)	1,18	0,89
13	-1 (HCl)	-1 (Ultrasonido)	+1 (4)	1,63	1,01
14	+1 (TCA)	-1 (Ultrasonido)	+1 (4)	1,41	1,08
15	-1 (HCl)	+1 (Mecánica)	+1 (4)	1,87	1,10
16	+1 (TCA)	+1 (Mecánica)	+1 (4)	1,03	1,10

Dado que se observó que el ácido de extracción recomendado por el diseño para la quinoa (HCl) es diferente que para el trigo (TCA) y que se han reportado mejoras en las recuperaciones de AF en muestras con alto contenido de minerales con el uso de TCA ⁷, se evaluó si existe diferencia significativa en el contenido de ácido fólico extraídos en las muestras de quinoa

usando estos dos ácidos (HCl 0,5 M y TCA 0,6 M). Para este estudio se pesaron 0,2 g de muestra, se tomaron 8 mL de ácido de extracción y se aplicó agitación mecánica por 4 horas en vez de ultrasonido, dado que el uso de ultrasonido es más complejo porque se requiere detener el proceso de extracción cada 40 min para refrescar el agua del baño.

Se encontró para la quinoa que el % de ácido fólico con el uso de HCl 0,5 M fue de $1,85 \pm 0,09$ y con TCA 0,6 M fue de $1,90 \pm 0,06$. Utilizando los contrastes de significación F y t para un 95% de confianza, no se visualizó diferencia significativa entre estos dos resultados.

Se tomaron entonces como condiciones óptimas de extracción, el sistema de agitación mecánica por 4 horas con TCA 0,6 M y un peso de muestra de 0,2 g. Bajo estas condiciones, se determinó nuevamente el contenido y % de recuperación de AF en la muestra en estudio (quinoa A de origen ecuatoriano), trigo y en una nueva muestra de quinoa de origen nacional (quinoa B). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3. En esta tabla se puede apreciar que los % recuperación son mayores al 82 % en todas las muestras. Se puede visualizar también una gran variabilidad de las concentraciones de minerales y AF entre las muestras de quinoa. Esta variabilidad es de esperarse para muestras de diferentes procedencias, dado que los suelos y características de cultivo son diferentes ² y esto reafirma la necesidad de que en cada país de origen es necesario realizar este tipo de estudio. Es de indicar también que los valores de recuperación se consideran aceptables, dado que están entre los rangos de 80 - 110 % establecidos por la AOAC para los criterios de validación de métodos analíticos ¹⁴.

Tabla 3. Resultados de concentración de Ca, Fe y Zn, ácido fólico (AF) y % de recuperación de ácido fólico en muestras de trigo y quinoa usando el método optimizado. Los resultados mostrados son el promedio de tres medidas con su desviación estándar.

Muestra	Ca	Fe	Zn	AF	%
	(mg /100 g)	(mg /100 g)	(mg /100 g)	(mg /100 g)	recuperación
Trigo	33,3 ± 0,5	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,3	1,13 ± 0,02	82 ± 2
Quinoa A	70 ± 2	8,6 ± 0,3	3,80 ± 0,02	1,90 ± 0,06	86 ± 2
Quinoa B	89 ± 5	7,9 ± 0,4	3,10 ± 0,09	1,01 ± 0,07	85 ± 1

CONCLUSIONES.

Los resultados encontrados demuestran que aunque las muestras de alimentos a analizar compartan las mismas características, siempre es necesario corroborar el método de análisis cuando se aplica a muestras diferentes. Se demuestra también que la quinoa, al tener un alto contenido de minerales, requiere condiciones más drásticas de tratamiento de muestra, con respecto a otros cereales, para asegurar la disolución completa de los complejos fitato/metalo que se forman, observando que es más importante aumentar el tiempo

po de extracción que el tipo de sistema de extracción y ácido empleado. Finalmente, con el método optimizado para granos de quinoa se logra una recuperación de ácido fítico entre 82 a 85 % para los diferentes cereales evaluados.

REFERENCIAS

1. Maradini M.; Ribeiro M.; Da Silva J.; Pinheiro H.; Paes J.; Dos Reis J. Quinoa: Nutritional, functional, and antinutritional aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2015, 57, 1618-1630.
2. Chito D.; Ortega R.; Ahumada A.; Rosero B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) versus soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) in human nutrition: Review on agroecological, compositional and technological characteristics. *Rev. Esp. Nutr. Hum. Diet.* 2017, 21, 184- 198
3. Martínez B.; Ibáñez M.; Rincón F. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *ALAN* 2002, 52, 219-231.
4. Repo-Carrasco-Valencia R.; Encina C.; Binaghi M.; Greco C.; Ronayne P. Effects of roasting and boiling of quinoa, kiwicha and kañiwa on composition and availability of minerals in vitro. *J. Sci. Food Agric.* 2010, 90, 2068-2073.
5. Lazarte C.; Carlsson N.; Almgren A; Sandberg A; Granfeldt Y. Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food and implications for mineral bioavailability. *J. Food Compos. Anal.* 2015, 39, 111-119.
6. Park H.; Ahn J.; Kim H.; Lee C.; Byun M.; Lee G. Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods. *Food Control.* 2006, 17, 727-732.
7. Amaro R.; Caripá D.; Mijares E.; Salas D.; Gomez L.; Murillo M.; Escalona A. Study of the effect of Ca, Fe and Zn content on the recovery of phytic acid in infant cereals with the HPLC-RI method: problems and solutions. *Rev. Ciencia.* 2016, 24, 56-66.
8. Carlsson N.; Bergman E.; Skoglund E.; Hasselblad K.; Sandberg A. Rapid analysis of inositol phosphates. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 1695-1701
9. Latta M.; Eskin M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J. Agric. Food Chem.* 1980, 28, 1313-1315.
10. Lehrfeld J.; Morris E.; Overestimation of phytic acid in foods by the AOAC Anion-exchange method. *J. Agric. Food Chem.* 1992, 40, 2208-2210.
11. Amaro R.; Hernández L.; Escalona A.; Murillo M. Optimization of the treatment of sample of wheat for the analysis of phytic acid by HPLC-RI. *J. AOAC International.* 2009, 92, 873-878.
12. Salas D. Estudio del efecto de los metales en la etapa de extracción en fase sólida del ácido fítico empleando muestras sintéticas que simulen cereales infantiles. Trabajo Especial de Grado. UCV. Octubre 2010.
13. Lehrfeld J. HPLC separation and quantitation of phytic acid and some inositol phosphates in foods: problems and solutions. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, 42, 2726-2732.
14. Standard format and guidance for AOAC Standard Method Performance Requirement (SMPR) Documents. Versión 12.1, 2011.