



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd* A PARTIR DE UN AISLADO PROTEICO

Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial

AUTORA:

Fernanda Karina Nazate Fraga

DIRECTOR:

Ing. Milton Jimmy Cuarán Guerrero, Mg.I

Ibarra-2016



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA *Chenopodium*
quinoa willd A PARTIR DE UN AISLADO PROTEICO**

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su
presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

APROBADA:

Ing. Jimmy Cuarán

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Lucía Toromoreno

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Iván Vaca

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Luis Armando Manosalvas

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO

CÉDULA DE IDENTIDAD: 040168248 - 9

APELLIDOS Y NOMBRES: Nazate Fraga Fernanda Karina

DIRECCIÓN: La Victoria, av. Espinoza polit

EMAIL: chiquitakary1889@hotmail.com

TELÉFONO FIJO: 062220214 **TELÉFONO MÓVIL:** 0993790654

DATOS DE LA OBRA

TÍTULO: OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd* A PARTIR DE UN AISLADO PROTEICO

AUTOR: Nazate Fraga Fernanda Karina

FECHA: 2016 -07- 25

SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO

PROGRAMA:	*	PREGRADO	POSTGRADO
------------------	---	----------	-----------

TÍTULO POR EL QUE OPTA: Ingeniero Agroindustrial

ASESOR / DIRECTOR: Ing. Jimmy Cuarán

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, Karina Fernanda Nazate Fraga, con cédula de identidad número 0401682489, en calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

3. CONSTANCIAS

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 25 días del mes de julio de 2016

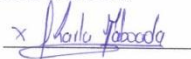
AUTORA:



Nazate Fraga Fernanda Karina

C.C: 040168248-9

ACEPTACIÓN:



Ing. Bethy Chávez

JEFE DE BIBLIOTECA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Nazate Fraga Fernanda Karina, bajo mi supervisión.



Ing. Jimmy Cuarán Guerrero. Mg.I

DIRECTOR DE TESIS

DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto es original, y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 25 días del mes de julio de 2016



Srta. Fernanda Karina Nazate Fraga

C.C: 040168248-9

v

v

**CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL
NORTE**

Yo, Fernanda Karina Nazate Fraga, con cédula de identidad Nro. 0401682489, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autora de la obra o trabajo de grado denominado: **Obtención de proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa willd* a partir de un aislado proteico**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **INGENIERA AGROINDUSTRIAL** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 25 días del mes de julio de 2016



Srta. Nazate Fraga Fernanda Karina.

C.C: 040168248-9

DEDICATORIA

A Dios, quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad, ni desfallecer en el intento.

A mi padre Alfonso, por ser más que padre un amigo que siempre ha creído en mí, por sus consejos, comprensión, amor y por enseñarme que en la vida todo logro con esfuerzo a la final tiene una gran recompensa; gracias papi a todo su esfuerzo y sacrificio hoy cumpliré un logro más que me he trazado en la vida.

A mi madre Ligia, por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar conmigo en todo momento, brindándome su amor, comprensión, sus palabras de aliento que nunca faltaron para alcanzar esta meta y por todo su apoyo incondicional en los momentos más difíciles; gracias mamita por estar pendiente de mí en toda esta etapa para ser la persona profesional que soy hoy.

A mi hermano Marlon, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por tus consejos de aliento, apoyo y por enseñarme que con sacrificio y perseverancia todo es posible.

De manera muy especial a toda la familia Navarrete Bolaños, gracias por sus palabras de aliento para alcanzar esta meta, por su cariño, apoyo incondicional y sobre todo por ser como mí segunda familia.

Karina

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica del Norte por brindar ciencia y tecnología al servicio del Pueblo y darme la oportunidad de haber concluido con los estudios de tercer nivel. En especial a la Escuela de Ingeniería Agroindustrial y sus dignos catedráticos, que pusieron todos sus conocimientos, para que, mediante la investigación y el esfuerzo personal, llegemos a culminar con éxito nuestra carrera.

A la Estación Experimental Santa Catalina del Institución Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, por brindarme la oportunidad de desarrollar mí proyecto de titulación en el Departamento de Nutrición y Calidad de alimentos II. En especial a la Ing. Elena Villacrés por su tiempo, paciencia y conocimientos impartidos, pero sobre todo por ser la guía constante en la ejecución del proyecto.

Al Ing. Jimmy Cuarán mi director de tesis quien con su paciencia y conocimientos guió ágil y acertada la ejecución de este proyecto.

A mis asesores: Dra. Lucía Toromoreno, Ing Iván Vaca e Ing Luis Armando Manosalvas que en forma oportuna, entusiasta y desinteresada me ayudaron y colaboraron en todo momento para la culminación de este proyecto.

A Javier, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su cariño, sus palabras de aliento en todo momento a no desfallecer mientras más duro se ponía la situación y sobre todo gracias por su ayuda incondicional he logrado culminar una de las etapas más importantes de mi vida.

A mi amigos/as Luchito, Alicia, Vero, Myri, Susy, Lupita, Elizeth, Marcelo, gracias por pasar a mi lado los momentos de mi vida universitaria y por recordarme que la vida está hecha para vivirla a cada instante y disfrutarla a cada momento. Jamás los olvidaré.

Karina

Tabla de contenido

1.	CAPÍTULO I.....	1
1.1	Problema.....	1
1.2	Justificación.....	2
1.3	Objetivos.....	3
1.3.1	OBJETIVO General.	3
1.3.2	Objetivos Específicos.	3
1.4	Hipótesis.....	4
1.4.1	Hipótesis nula.	4
1.4.2	Hipótesis alternativa.	4
2.	CAPÍTULO II.....	5
2.1	Quinoa.....	5
2.1.1	Descripción física del grano de quinua.....	5
2.1.2	Composición química y valor nutricional de la quinua.....	6
2.1.3	Zonas de producción.....	8
2.1.4	Proteína de la quinua.....	9
2.1.5	Almidón de la quinua.....	13
2.2	Aislados proteicos y sus aplicaciones.....	15
2.2.1	Método tradicional, precipitación isoelectrica.....	16
2.2.2	Método enzimático.....	17
2.3	hidrólisis enzimática de las proteínas.....	21
2.3.1	Enzimas proteolíticas.....	21
2.3.2	Desnaturalización de las proteínas.....	22
2.4	Hidrolizados proteicos y sus aplicaciones.....	24

2.4.1	Obtención de un hidrolizado proteico	24
2.4.2	Grado de hidrólisis de un hidrolizado proteico	25
2.4.3	Propiedades funcionales de un hidrolizado proteico	25
2.4.4	Propiedades nutricionales de un hidrolizado proteico.....	29
3.	CAPÍTULO III	31
3.1	Caracterización del área de estudio	30
3.1.1	Ubicación del experimento.....	30
3.2	Materiales y equipos	30
3.3	Métodos	33
3.3.1	Evaluación de dos métodos para la obtención de un aislado proteico a partir de la quinua.....	33
3.3.2	Determinación de los parámetros tecnológicos para la obtención de proteína hidrolizada de quinua	41
3.3.3	Determinar de las propiedades funcionales del hidrolizado proteico de quinua.....	94
3.3.3	Determinar de las propiedades nutricionales del hidrolizado proteico de quinua.....	94
3.4	Manejo específico del experimento	47
3.4.1	Diagrama de bloques para la elaboración de harina de quinua <i>Chenopodium quinoa willd.</i>	47
3.4.2	Diagrama de bloques para la obtención de un aislado proteico de quinua <i>Chenopodium quinoa willd</i> por precipitación isoeléctrica.....	50
3.4.3	Diagrama de bloques para la obtención de un aislado proteico de quinua <i>chenopodium quinoa willd</i> método enzimático.	54
3.4.4	Diagrama de proceso para la obtención de proteína hidrolizada de quinua <i>Chenopodium quínoa willd.</i>	57

4.	CAPÍTULO IV	942
4.1	Evaluación de dos métodos para la obtención de un aislado proteico a partir de la quinua.....	60
4.1.1	Método tradicional (precipitación isoelectrica).....	60
4.1.2	Método enzimáticos para la obtención de un aislado proteico de quinua.	94
4.2	Determinar los parámetros tecnológicos para la obtención de un hidrolizado proteico de quinua.....	94
4.3	caracterización química del hidrolizado proteico de quinua	106
4.4.	Determinación de las propiedades y funcionales del hidrolizado de quinua.....	111
4.4.1	Índice de dispersibilidad y solubilidad de la proteína hidrolizada de quinua.....	111
4.4.3	Capacidad espumante en el hidrolizado proteico de quinua.....	110
4.5	Determinación de las proteínas nutricionales del hidrolizado proteico de quinua	111
4.5.1	Contenido de proteína en el hidrolizado proteico de quinua	111
4.5.2	Perfil de aminoácidos en el hidrolizado de quinua.....	112
4.5.3	digestibilidad de la proteína en el hidrolizado de quinua	113
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	117
5.1	CONCLUSIONES.....	115
5.2	RECOMENDACIONES	117
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	120
7.	ANEXOS	128

INDICE DE TABLAS

Tabla 2. Composición nutricional de la quinua en porcentaje	7
Tabla 3. Perfil de aminoácidos de quinua en 100g de proteína.....	7
Tabla 4 Composición química y valor nutricional de la quinua comparado con otros cereales.....	8
Tabla 5 Comparación de los perfiles de los aminoácidos esenciales de la quinua y otros cultivos seleccionados con el patrón de puntuación recomendado por la FAO para edades comprendidas entre 3 y los 10 años (g/100g de proteína).....	10
Tabla 6 Principales tipos de hidrolizados proteicos y sus aplicaciones	25
Tabla 7. Prueba de Tukey al 5 % para el rendimiento del aislado, por precipitación isoelectrica.....	64
Tabla 8. Prueba de Diferencia Mínima Significativa para factor A y factor B en el rendimiento del aislado, por precipitación isoelectrica.....	65
Tabla 9. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.	68
Tabla 10. Prueba de DMS para Factor A Y Factor B en el contenido de proteína aislada por precipitación isoelectrica.	68
Tabla 11. Prueba de Tukey al 5 % para el índice de refracción en la hidrólisis del almidón por vía enzimática	72
Tabla 12. Prueba de Diferencia mínima significativa para factor A; factor B; factor C en el índice de refracción para la hidrólisis del almidón por vía enzimática. ...	72
Tabla 13. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática	78
Tabla 14. Prueba de diferencia mínima significativa para factor A, factor B y factor C en el contenido de almidón presente en el aislado proteico por vía enzimática..	78
Tabla 15. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática	84

Tabla 16. Prueba de diferencia mínima significativa, para factor A, factor B y factor C en el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.	84
Tabla 17. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.	90
Tabla 18. Prueba de diferencia mínima significativa para factor A, factor B y factor C en la variable rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática.....	90
Tabla 19. Prueba de Tukey al 5 % para el grado de hidrólisis en el aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.	96
Tabla 20. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A, factor B y factor C en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.....	96
Tabla 21. Prueba de Tukey al 5 % para el índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.....	102
Tabla 22. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A, factor B y factor C en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.	102
Tabla 23 Composición proximal del hidrolizado proteico de quinua (g/100g) ..	106
Tabla 24. Composición de perfil de aminoácidos en g/100g de proteína hidrolizada de quinua	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Semilla y corte longitudinal del grano de quinua	6
Figura 2 Zonas de producción de la quinua	9
Figura 3 Características de las estructuras de las proteínas	12
Figura 4 Cadena amilosa.....	14
Figura 5 Cadena amilopectina	15
Figura 6 Precipitado proteico de la quinua y cañihua.....	17
Figura 7 Reacción enzimática	19
Figura 8 Actividad enzimática	20
Figura 9 Etapas de la formación de Espuma.....	28

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Rendimiento del aislado proteico por precipitación isoelectrica.....	36
Ecuación 2 Cuantificación de almidón en el aislado de quinua por vía enzimática	40
Ecuación 3 Rendimiento del aislado de quinua por vía enzimática.....	40
Ecuación 4 Grado de hidrólisis de la proteína hidrolizada	43
Ecuación 5 Capacidad espumante en la proteína hidrolizada	45
Ecuación 6 Capacidad de retención de agua en el hidrolizado de proteína	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Contenido de sólidos solubles en el sobrenadante.....	61
Gráfico 2. Rendimiento de la proteína asilada de quinua por precipitación isoelectrica.....	63
Gráfico 3. Interacción de los factores (AxB) en la variable rendimiento de la proteína aislada por precipitación isoelectrica.	65
Gráfico 4. Contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoelectrico	66
Gráfico 5. Contenido de proteína en el aislado por precipitación isoelectrica.....	69
3.1.2.1 Variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de quinua	
Gráfico 6 Hidrólisis del almidón de quinua	70
Gráfico 7. Interacción en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón.....	73
Gráfico 8. Interacción AxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón.....	74
Gráfico 9. Interacción BxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón.....	75
Gráfico 10. Contenido de almidón en el aislado por vía enzimática.....	76
Gráfico 11. Interacción AxB en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática	79
Gráfico 12. Interacción AxC en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática	80
Gráfico 13. Interacción BxC en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática	81
Gráfico 14. Contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática	82

Gráfico 15. Interacción AxB en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática	85
Gráfico 16. Interacción AxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática	86
Gráfico 17. Interacción BxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática	87
Gráfico 18. Rendimiento del aislado proteico por vía enzimática	88
Gráfico 19. Interacción AxB en la variable rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática.....	91
Gráfico 20. Interacción AxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática.....	92
Gráfico 21. Interacción BxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática.....	93
Gráfico 22. Grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica	94
Gráfico 23. Interacción AxB en la variable grado de hidrólisis de la proteína....	97
Gráfico 24. Interacción AxC en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.	98
Gráfico 25. Interacción BxC en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.	99
Gráfico 26. Índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico por precipitación isoelectrica.....	100
Gráfico 27. Interacción AxB en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico	103
Gráfico 28. Interacción AxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.	104
Gráfico 29. Interacción BxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.	105

Gráfico 30. Índice de dispersibilidad y solubilidad de la proteína hidrolizada de quinua.....	107
Gráfico 31. Capacidad de retención de agua y aceite en el hidrolizado de quinua	109
Gráfico 32. Efecto del pH sobre la capacidad espumante del hidrolizado de quinua	110
Gráfico 33. Contenido de proteína en el hidrolizado proteico de quinua.	111
Gráfico 34. Digestibilidad de la proteína en el hidrolizado proteico de quinua.	113

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Solubilización de la proteína (NaOH) 1N.....	33
Cuadro 2 Tratamientos de estudio para la solubilización de la proteína (NaOH) 1N primera fase.....	34
Cuadro 3 Esquema del análisis de varianza para la solubilización de la proteína (NaOH) 1N primera fase.....	34
Cuadro 4 Precipitación isoelectrica (pH 4.5) de la proteína (segunda fase).....	35
Cuadro 5 Tratamientos de estudio para la precipitación isoelectrica (pH 4.5) de la proteína (segunda fase).	35
Cuadro 6 Esquema del análisis de varianza para la precipitación isoelectrica (pH 4.5) de la proteína (segunda fase).	36
Cuadro 7 Obtener un aislado de quinua por vía enzimática	38
Cuadro 8 Tratamientos de estudio para la obtención de un aislado de quinua por vía enzimática.....	38
Cuadro 9 Esquema del análisis de varianza para la obtención de un aislado proteico de quinua método enzimático.....	39
Cuadro 10 Obtención de proteína hidrolizada de quinua.	42
Cuadro 11 Tratamientos de estudio para la obtención de proteína hidroliza de quinua.....	42

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina, Provincia de Pichincha. El objetivo fue obtener proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa willd* a partir de un aislado proteico con buenas propiedades funcionales, especialmente de solubilidad, alta digestibilidad, calidad proteica y como alternativa interesante para el desarrollo de nuevos productos. Entre los objetivos específicos planteados: se evaluó dos métodos para la obtención de un aislado proteico por precipitación isoelectrica y por vía enzimática, se determinó los parámetros tecnológicos para la obtención de un hidrolizado proteico y se evaluó las propiedades funcionales, nutricionales del hidrolizado.

En la evaluación de los dos métodos para la obtención de un aislado proteico, fue mejor por precipitación isoelectrica por presentar mayor contenido de proteína en el tratamiento T2 a pH 9 con Na (OH) 1N, precipitación con ácido cítrico a pH 4,5 y un lavado condiciones adecuadas que permiten obtener una cantidad apreciable de proteína libre de polisacáridos insolubles y fibra cruda.

Para el proceso hidrólisis de la proteína se tomó el aislado por precipitación isoelectrica con 66,21% de proteína, consiguiendo un grado de hidrólisis 13,37% porcentaje de aminoácidos liberados en relación a la proteína original con los siguientes parámetros concentración de enzima papaína a 0,159 UA/g enzima, temperatura de 65°C con Na (OH) 1N a pH 6,5 se obtuvo un hidrolizado proteico con 73,41% en proteína.

La evaluación de las propiedades funcionales y nutricionales en el hidrolizado proteico de quinua presentó un índice de dispersibilidad de 83,71%, solubilidad de la proteína de 85,35%, capacidad espumante de 125%, capacidad de retención de agua 0,33 g/g proteína; aceite 0,56 g/g proteína y una digestibilidad de la proteína hidrolizada de 87,75% propiedades que le permiten contribuir características deseables a un alimento.

ABSTRACT.

This study was conducted in the Laboratorio de Nutricion y Calidad at the Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estacion Experimental Santa Catalina, in the Pichincha Province. The goal was to obtain quinoa hydrolyzed protein *Chenopodium quinoa willd* from beginning from an isolated protein having good functional properties, especially when it comes to solubility, high degree of digestibility and high quality protein, representing interesting alternatives to the development of new products. Among the specific objectives set out were the following: Two methods were assessed in order to obtain isolated protein, by isoelectric precipitation and through enzymatic means. Technological parameters were determined for obtaining hydrolyzed protein isolate hence, evaluating the functional and nutritional properties of the hydrolyzed element.

During the evaluation of the two methodologies used for the collection of the protein, it was determined that the isoelectric precipitation worked best to get better protein content when using a T2 treatment at pH9 with Na (OH) 1N, citric acid precipitation at pH 4,5 and a wash off under adequate conditions that allow obtaining a high quantity of polysaccharide-free, insoluble, raw fiber protein.

For the protein hydrolysis process, the isolate was taken through isoelectric precipitation with 66, 21% from the protein, obtaining a hydrolysis degree of 13, 37%, released amino-acids percentage compared to the original protein used with the following concentration parameters of the Papain enzyme at 0,159 UA/g enzyme, temperature at 65°C with Na (OH) 1N, pH 6, 5 obtaining hydrolyzed protein with 73, 41% protein concentrate.

The assessment of quinoa's hydrolyzed protein functional and nutritional properties showed a dispensability index of 83,71%, protein solubility at 85,35%, frothing capacity at 125%, water retention capacity at 0,33 g/g protein, oil 0,56 g/g protein and finally hydrolyzed protein digestibility at 87,75%. Such properties allow the release of desirable contributing characteristics to certain food.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

.En el Ecuador el desarrollo de alternativas de industrialización de la quinua ha sido mínima, aun cuando se sabe que de la quinua se pueden obtener múltiples productos (Peralta E. , 2011).

La quinua *Chenopodium quinoa willd* es considerada como un gran alimento, ya que forma parte de la soberanía alimentaria de los pueblos y naciones latinas. A partir de este grano se puede obtener varios productos que pueden ser aprovechados e incorporados en la alimentación, uno de ellos es la proteína con un contenido moderado de este nutriente (11,00-21,30%) en comparación con la carne (20%); contiene 16 aminoácidos de los 24 existentes entre los que se destaca la lisina, por lo que en calidad nutricional es comparable con las proteínas de la leche, huevos y carne fuentes proteicas de origen animal.

Hoy en día la situación nutricional en la población ecuatoriana es un motivo de preocupación debido a los malos hábitos alimenticios que afectan el estado nutricional, lo que determina una gran falencia en la alimentación y grandes problemas de mal nutrición que pueden llegar a presentarse especialmente en personas de tercera edad que requieren una cantidad de proteína de 63 g/ día, madres embarazadas 71g/día que es una porción superior a la indicada ya que diariamente la ingesta recomendada de proteína en personas sanas es 0,8 g/Kg/día según su peso, el cuerpo humano necesita una porción diaria de proteína (FAO/OMS/UNU, 2010).

En nuestro país, la quinua es comercializada en grano para el consumo familiar, sin un valor agregado significativo, lo que perjudica tanto al productor como al consumidor por no tener alternativas del producto en presentaciones que permitan un mayor consumo diario y así aprovechar sus bondades nutricionales.¹

1.2 JUSTIFICACIÓN

La calidad de vida de los ecuatorianos se ve afectada, en parte por los hábitos alimenticios inadecuados que repercuten en su estado nutricional. Por esta razón se busca diversificar la utilización de este grano andino nutritivo, con el fin de que pueda ser considerada como fuente alimenticia de primer orden para la población ecuatoriana y se modifique al menos parcialmente, la matriz de exportación, de grano primario a proteína aislada, base para la producción de otros alimentos como leches maternizadas, bebidas funcionales, productos cárnicos y otros.

En ciertos productos, las proteínas de origen animal pueden ser reemplazadas por proteínas vegetales, debido a sus propiedades funcionales y nutricionales.

Esta investigación está encaminada a la obtención de un hidrolizado proteico, con buenas propiedades funcionales, especialmente de solubilidad, alta digestibilidad y agradable al consumidor, características útiles en el desarrollo de bebidas nutritivas y como alternativa interesante para el desarrollo de nuevos productos (Villacrés & Ruales, 2014).

Los sectores de la población a los que van dirigidos estos hidrolizados son diversos: personas de la tercera edad, nutrición hospitalaria, colaciones para niños y en general como base para la elaboración de productos alimenticios orientados a regímenes especiales. En el campo de la industria alimenticia la proteína hidrolizada de quinua tiene diversas aplicaciones como emulsificante, espumante y fortificante.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL.

Obtener proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa willd* a partir de un aislado proteico.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Evaluar dos métodos para la obtención de un aislado proteico a partir de la quinua.
- Determinar los parámetros tecnológicos para la obtención de un hidrolizado proteico de quinua.
- Evaluar las propiedades funcionales de un hidrolizado proteico de quinua.
- Evaluar las propiedades nutricionales de un hidrolizado proteico de quinua.

1.4 HIPÓTESIS

1.4.1 HIPÓTESIS NULA.

Ho= los métodos utilizados precipitación isoelectrica y enzimática para obtener un aislado proteico presentan iguales rendimientos en proteína.

1.4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.

Hi= los métodos utilizados precipitación isoelectrica y enzimática para obtener un aislado proteico presentan diferentes rendimientos en proteína.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 QUINUA

La quinua *Chenopodium quinoa willd.*, es una planta dicotiledónea de cultivo sudamericano cuya semilla se ha disparado en popularidad como alimento durante los 30 últimos años, sobre todo en Europa y América del Norte, pero también en la región Andina. Además, es considerada como uno de los alimentos más completos que dispone el ser humano por presentar un adecuado balance de aminoácidos que se aproximan a los requerimientos nutricionales recomendados por la FAO (Bazile, Bertero, & Nieto, 2014).

De acuerdo a Revelo (2010) este grano andino, es un alimento de excepcional valor nutritivo principalmente por su alto contenido de proteína (11,00-21,30%), casi el doble con respecto a otros cereales como son el arroz y el trigo. Así mismo, es rica en aminoácidos esenciales, almidón, grasa, minerales y vitaminas en diferente proporción lo que ha hecho que la quinua sea llamada como “grano madre”, por ser comparable con la leche materna en cuanto a su valor nutricional.

2.1.1 DESCRIPCIÓN FÍSICA DEL GRANO DE QUINUA

Según Cervilla & Miranda (2015) mencionan que el grano de quinua es un aquenio, es decir posee una envoltura externa que se desprende fácilmente del grano. Además, su semilla es de forma lenticular, elipsoidal, cónica o esferoidal y presenta tres partes bien definidas que son: episperma, embrión y perisperma.

El episperma está constituido por cuatro capas: una externa de superficie rugosa, quebradiza que se desprende fácilmente al frotarla, en ella se ubica la saponina que da el sabor amargo al grano. Así mismo, otra de sus partes es el embrión que está formado por dos cotiledones y una radícula como se ve en la Fig.1, este constituye el 30% del volumen total de la semilla; es de color amarillento y con cierta frecuencia se encuentran tres cotiledones, posee la mayor cantidad de proteína que alcanza del 35-40%, mientras que en el perisperma solo del 6,3 al 8,3% de la proteína total del grano.

Por lo tanto, el perisperma es el principal tejido de almacenamiento y está constituido mayormente por granos de almidón, es de color blanquecino y representa prácticamente el 60% de la superficie de la semilla (Vicente, 2013).

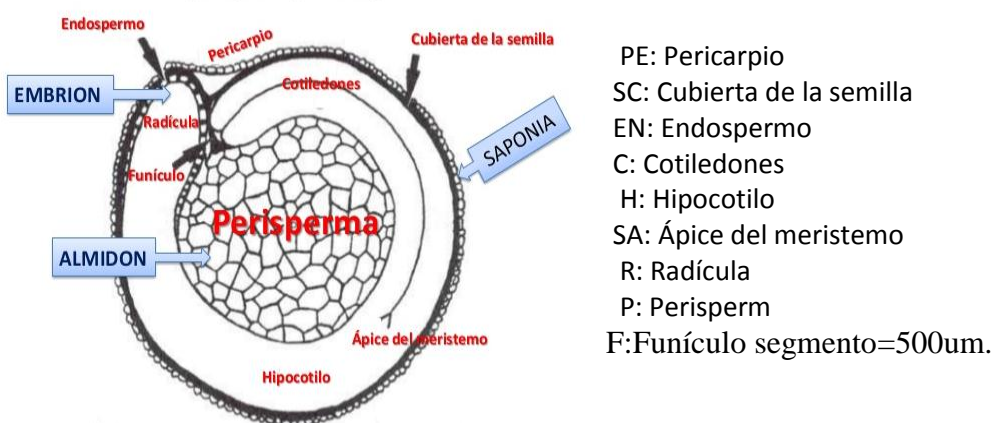


Figura 1. Corte longitudinal del grano de quinua (Prego, Maldonado, & Otegui, 1988).

2.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL DE LA QUINUA

Según Velásquez et al (2014) indican que nutricionalmente, este pseudocereal se destaca por ser fuente de proteínas de calidad, fibra dietética, grasas poliinsaturadas y minerales. Es decir consumir quinua brinda muchos nutrientes importantes para una dieta equilibrada a fin de obtener una buena nutrición general.

A continuación se muestra en la tabla 1, la composición nutricional de la quinua.

Tabla 1. Composición nutricional de la quinua en porcentaje

NUTRIENTES	%
Humedad	9,40 – 13
Proteína	11,00 – 21,30
Fibra	2,10 – 4,90
Carbohidratos totales	53,50 - 76.20
Grasa	5,30 – 6,40
Cenizas	3,36
Calorías	351

Fuente: la quinua y Kañiwa (Tapia, 2010).

Entre los más importantes aminoácidos que posee la quinua, está la lisina importante para el desarrollo del cerebro, la arginina e histidina básicos para el desarrollo del ser humano durante la infancia. No obstante, es pobre en grasa con un contenido de 4 a 9%, de los cuales la mitad contienen ácido linoleico esencial para la dieta humana (Muñoz, Montero, & Montesdeoca, 2012).

En la tabla 2, apreciamos el perfil de aminoácidos presentes en el grano de quinua.

Tabla 2. Perfil de aminoácidos de quinua en 100g de proteína.

AMINOÁCIDOS ESENCIALES	QUINUA (%)	AMINOÁCIDOS NO ESENCIALES	QUINUA (%)
Histidina	4,6	Ácido glutámico	16,2
Isoleucina	7,0	Cisterina	7,0
Leucina	7,3	Serina	4,8
Lisina	8,4	Tirosina	6,7
Metionina	5,5	Prolina	3,5
Fenilalanina	5,3	Alanina	4,7
Treonina	5,7	Glicina	5,2
Triptófano	1,2	Ácido aspártico	8,6
Valina	7,6		
Argina	7,4		

Fuente: Perfil de aminoácidos de quinua (Sierra, 2012).

Por otra parte, la semilla de quinua es uno de los pocos alimentos de origen vegetal que es nutricionalmente completo, tanto por su composición, por la cantidad y la calidad de las proteínas que lo convierten en un alimento valioso para la vida humana según Meyhuay (2012) en comparación a otros cereales como son: el trigo, arroz, y maíz como se presentan en la tabla 3.

Tabla 3 Composición química y valor nutricional de la quinua comparado con otros cereales.

Componentes (%)	Quinua	Trigo	Arroz	Maíz
Valor energético kcal/100g	350,00	305,00	353,00	338,00
Proteínas	13,81	11,50	7,40	9,20
Grasa g/ 100g	5,01	2,00	2,20	3,80
Hidratos de Carbono g/100g	59,74	59,40	74,60	65,20
Agua g/100g	12,65	13,20	13,10	12,50
Ca mg/100g	66,60	43,70	23,00	150,00
P mg/100g	408,30	406,00	325,00	256,00
Mg mg/100g	204,20	147,00	157,00	120,00
K mg/100g	1040,00	502,00	150,00	330,00
Fe mg/100g	10,90	3,30	2,60	
Mn mg/100g	2,21	3,40	1,10	0,48
Zn mg/100g	7,47	4,10		2,50

Fuente: “Quinua el grano de los Andes” (Comité de exportación de quinua, 2009)

2.1.3 ZONAS DE PRODUCCIÓN

Según la FAO (2013) la quinua es cultivada en los Andes desde hace más de siete mil años y considerada un grano sagrado por los pueblos originarios, debido a sus características nutricionales, excelente balance de aminoácidos y ácidos grasos esenciales, es rico en vitaminas, minerales y libre de gluten; lo que confirma su potencial para contribuir a la seguridad alimentaria, a la lucha contra el hambre y la desnutrición. Se encuentra de forma nativa en todos los países de la región andina encontrándose desde Colombia (Pasto) hasta el norte de Argentina (Jujuy y Salta) y el sur de Chile.

En el Ecuador, las principales zonas de producción están en Chimborazo, Imbabura, Cotopaxi, Tungurahua, Pichincha, Cañar y Carchi en mayor proporción de superficie cultivada de quinua (Sánchez C. , 2012).

La producción de quinua a nivel nacional se encuentra en el orden de 3699,63 Tm/año y en la actualidad en el país existen 4559,13 hectáreas sembradas de este producto exótico andino, debido a que ahora hay un creciente interés a escala mundial por su alto valor nutritivo (INEC, 2014).



Figura 2 Distribución geográfica actual y potencial del cultivo de quinua en el Ecuador (Peralta & Mazón, 2014).

2.1.4 PROTEÍNA DE LA QUINUA

La quinua contiene proteínas de alto valor biológico, es decir todos los aminoácidos incluidos los esenciales los que el organismo es incapaz de fabricar y por tanto requiere ingerirlos con la alimentación.

Según la FAO (2013) los valores del contenido en la proteína de quinua está compuesta por aminoácidos, ocho de los cuales están considerados esenciales tanto para niños en edad preescolar, escolar como para adultos, como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4 Comparación de los perfiles de los aminoácidos esenciales de la quinua y otros cultivos seleccionados con el patrón de puntuación recomendado por la FAO para edades comprendidas entre 3 y los 10 años (g/100g de proteína).

	FAO	Quinua	Maíz	Arroz	Trigo
Isoleucina	3,0	4,9	4,0	4,1	4,2
Leucina	6,1	6,6	12,5	8,2	6,8
Lisina	4,8	6,0	2,9	3,8	2,6
Metionina	2,3	5,3	4,0	3,6	3,7
Fenilalanina	4,1	6,9	8,6	10,5	8,2
Treonina	2,5	3,7	3,8	3,8	2,8
Triptófano	0,66	0,9	0,7	1,1	1,2
Valina	4,0	4,5	5,0	6,1	4,4

Fuente: Dietary protein quality evaluation in human nutrition (FAO, 2013).

2.1.4.1 **Proteínas**

Para Mckee (2014) las proteínas son moléculas complejas que desempeñan muchas funciones en los seres vivos. Además, están compuestas de uno o más polipéptidos llamados aminoácidos que se encuentran tanto en células animales como en vegetales.

Por otra parte en la nutrición, las proteínas poseen un papel fundamental ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos que podrían ser utilizados para las síntesis de las proteínas y otras sustancias nitrogenadas (Gálvez, Flores, & González, 2013).

Es decir, son muy necesarias para la vida por que desempeñan la mayor parte de funciones en las células de todos los seres vivos y son fundamentales para el crecimiento, desarrollo, reparación y para el buen funcionamiento del organismo.

2.1.4.2 **Estructura de las proteínas**

Según Feduchi et al (2015) concluyen que las proteínas son muy importantes y que cumplen con una extraordinaria diversidad de funciones en los seres vivos, tales como:

- Estructural que confiere elasticidad.
- Resistencia a órganos y tejidos.
- Transporte de hemoglobina o albumina que trasladan oxígeno y ácidos grasos.

-Enzimática que actúan como biocatalizadores de las reacciones químicas del metabolismo celular.

-Defensiva, las inmunoglobulinas que ayudan a las defensas del cuerpo.

-Reguladora, la insulina que se encarga de regular la glucosa en la sangre entre otras.

Por consiguiente, una proteína presenta varios niveles de organización. Es decir, posee una estructura primaria, la cual corresponde a la secuencia de aminoácidos ligados entre sí por enlaces covalentes. Así mismo, tiene una estructura secundaria y terciaria que se refieren a la organización tridimensional de la cadena polipeptídica y por último, una estructura cuaternaria que corresponde a la distribución geométrica entre las diversas cadenas polipeptídicas unidas entre sí por enlaces que en la mayoría no son covalentes, hasta formar un complejo proteico (Mckee & Mckee, 2014).

Las estructuras de las proteínas se muestran en la Figura 3.

2.1.4.3 **Calidad de las proteínas**

La calidad de una proteína depende en gran parte de la concentración de sus aminoácidos y su digestibilidad. Es decir si una proteína es incompleta en uno o más aminoácidos esenciales, se denomina “aminoácido limitante” cuyas concentraciones de aminoácidos se hallan por debajo de los niveles de proteína de referencia (Padrón, Oropeza, & Montes, 2015).

Por lo tanto, las proteínas al poseer uno o más aminoácidos limitantes restringen la síntesis proteica en el organismo y no pueden ser utilizadas completamente. Sin embargo, al presentar baja calidad y ser deficiente en aminoácidos puede mejorarse nutricionalmente, suplementándose con otra proteína rica en ese aminoácido esencial. Por ejemplo, la mezcla de proteínas de cereales con proteínas de leguminosas que proporciona un contenido en aminoácidos esenciales completo y bien equilibrado (Fennema, 2010).

	CARACTERÍSTICA	FIGURA
Primaria	Secuencia de aminoácidos ligados entre sí por enlaces covalentes.	<p>Estructura primaria</p> <p>ala arg asn asp cys gln glu gly his ile leu lys met phe pro ser thr trp tyr val</p>
Secundaria	Los aminoácidos se acoplan y gira sus enlaces. Existe dos principales la hélice α y la β . Cada cadena posee una conformación específica nativa o natural.	<p>α-hélice</p> <p>β-laminar</p>
Terciaria	Organización tridimensional. Contiene zonas de estructura secundaria. Facilita la solubilidad en el agua.	<p>ESTRUCTURA TERCIARIA</p> <p>puente disulfuro</p> <p>-S-S-</p> <p>interacción hidrofóbica</p> <p>COO⁻ H₃N⁺</p> <p>puente eléctrico</p> <p>puentes eléctricos</p>
Cuaternaria	Es el resultado de asociaciones no covalentes de unidades proteicas. Los enlaces que estabilizan las estructuras son los mismos de la estructura terciaria: puentes salinos, de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e hidrófobas.	<p>Estructura primaria (Secuencia de aminoácidos)</p> <p>Estructura secundaria (hélice)</p> <p>Estructura terciaria (Peptido individual doblado)</p> <p>Estructura cuaternaria (agregados de dos o más peptidos)</p>

Figura 3 Características de las estructuras de las proteínas (Camino, 2011).

2.1.5 ALMIDÓN DE LA QUINUA

Para Barros (2012) la quinua es una fuente importante de carbohidratos, su contenido de almidón es de 54% en base seca, presenta dos tipos de cadenas polímeras, una es lineal, llamada amilosa con 7,1y 11,2% de contenido en la quinua y la otra parte con ramificaciones llamada amilopectina con una estructura molecular muy parecida al del almidón ceroso, con un grado de cristalinidad de 35% aproximadamente en comparación al almidón del trigo y a la cebada.

Además, el almidón de quinua muestra mayor viscosidad, capacidad de retención de agua, poder de hinchamiento, como también la temperatura de gelatinización es mayor; en resultados que reflejan un mejor desempeño como agente espesante para rellenos, pero pobre para la elaboración de panes (Bazile, Calandri, Alanoca, & Alercia, 2014).

En otras palabras, el almidón es la principal sustancia de reserva de energía en los vegetales. Se encuentra en tubérculos y en todos los cereales, en donde representa entre el 60 y 70% de su composición química. Si bien la quinua no es un cereal dado a que pertenece a las quenopodiáceas, su contenido en almidón es próximo a aquellos valores, motivo por el cual se lo denomina “pseudocereal” (Calandri, 2015).

A continuación se detalla los dos polímeros que presenta el almidón

2.1.5.1 Amilosa

La amilosa es una cadena lineal de unidades de glucosa, unidas por enlaces α (1-4) y por moléculas que poseen pocas ramificaciones por enlaces α (1-6) entre 0,3-0,5% que pueden estar presentes. Sus ramificaciones pueden ser muy largas o muy cortas, pero los puntos de ramificación están separados por largas distancias con pesos de alrededor de 10^6 (Fennema, 2010).

Por otra parte, la amilosa es una molécula que no es soluble en agua, pero puede formar micelas hidratadas por su capacidad de enlazar moléculas vecinas por puentes de hidrógeno y generar una estructura helicoidal, que es capaz de

desarrollar un color azul por la formación de un complejo con el yodo (Martínez E. , 2015).

En conclusión, la amilosa se encuentra en la mayoría de los almidones con alrededor del 25% de su contenido en el grano, como son: maíz, trigo, sorgo, cebada entre otros (Beltrán & Herreño, 2010).

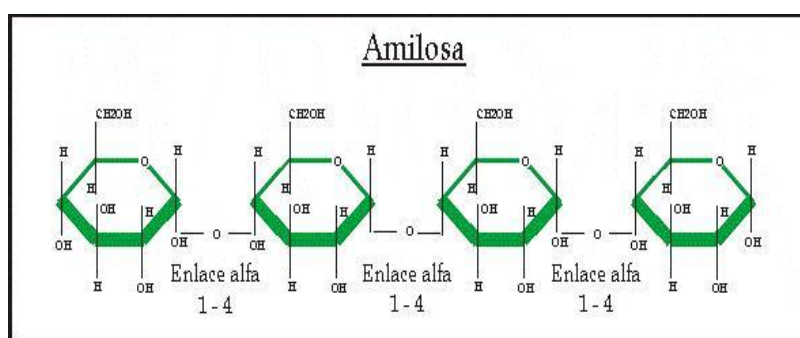


Figura 4 Cadena amilosa (Calandri, 2015).

2.1.5.2 Amilopectina

Para Martínez (2015) la amilopectina es una molécula muy grande y altamente ramificada con unidades de glucosa unidas en un 94-96% por enlaces α (1-4) y en un 4-6% con uniones α (1-6) del total de los enlaces. Dichas ramificaciones se localizan aproximadamente a cada 15-25 unidades de glucosa. Además, es parcialmente soluble en agua caliente y en presencia de yodo produce un color rojizo violeta.

Es decir, la amilopectina está presente en todos los almidones y constituye alrededor del 75% de su contenido, algunos almidones están constituidos solo por amilopectina y son conocidos como céreos, debido a que produce un líquido viscoso claro, con baja viscosidad, buena estabilidad y tiene menor tendencia a la retrogradación entre los más comunes son: la papa, trigo, cebada, sorgo entre otros (Badui, 2013).

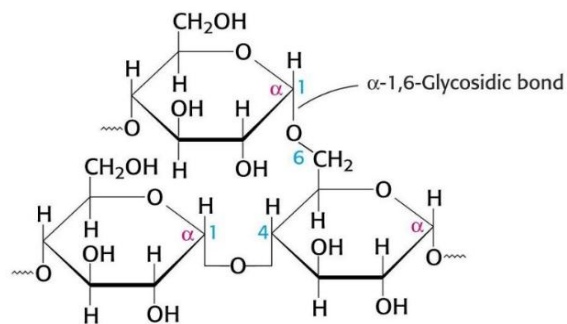


Figura 5 Cadena amilopectina (Calandri, 2015)

2.2 AISLADOS PROTEICOS Y SUS APLICACIONES

Un aislado proteico es aquel cuyo contenido de proteínas es mayor al 70% y que las proteínas constituyentes deben ser exactamente las que se encontraban en la fuente orgánica inicial, sin haber sufrido proceso de degradación o hidrólisis no deseables. Su proceso de elaboración supone una serie de etapas encaminadas a eliminar o disminuir los componentes no proteicos, para lograr un producto final con el 70-80% de proteína (Caiza, 2011).

Además, los aislados proteicos presentan mayor digestibilidad y bajo carácter alergénico que la proteína en estado nativo, permiten mejorar sus propiedades funcionales y nutricionales como son: emulsificación, estabilización e incremento de viscosidad, mejoramiento de la apariencia, del gusto, la textura, que facilitan su incorporación en sistemas alimenticios de consumo humano y puedan ser utilizados en la elaboración de diferentes productos, tales como: productos horneados, bebidas para deportistas, embutidos y alimentos para bebés, por mencionar algunos (Martínez, Medina, & Zambrano, 2011).

Para la obtención de un aislado proteico los procedimientos más utilizados son el método tradicional y el método enzimático por la facilidad de su implementación, por los altos rendimientos obtenidos; además permiten la fácil separación de sustancias no proteicas tales como: azúcares, fibra, lípidos y otros componentes no deseables en el producto final.

2.2.1 MÉTODO TRADICIONAL, PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA

La precipitación isoeléctrica es el pH en donde la proteína presenta carga neta compensada (igual número de cargas positivas que negativas), es decir carga eléctrica cero. En este pH la proteína presenta su mínima solubilidad que permite que precipite y sea incapaz de desplazarse a otro campo eléctrico (Peinado & Meléndez, 2010).

La metodología más utilizada para obtener aislados proteicos vegetales es por solubilización alcalina, seguido de la precipitación isoeléctrica; por ofrecer alto contenido de proteína este método comprende dos fases que a continuación se detallan.

2.2.1.1 Primera etapa solubilización alcalina

Las proteínas en el proceso de solubilización a pH alcalino, tienen una predominancia de especies cargadas negativamente, debido a la ionización de los grupos carboxilo y la desprotonación de los grupos amina, fenómeno que provoca el aumento de la interacción con el disolvente, permitiendo de este modo la solubilidad de la proteína (Valenzuela, Abugoch, Tapia, & Gamboa, 2013).

Otro factor importante en la solubilización alcalina de las proteínas, es no trabajar a pH alcalinos mayores a 9. Esto debido a que, afectan negativamente a los aminoácidos azufrados y a otros esenciales, como a la lisina, generando lisino-alanina, asimismo de causar desnaturalización y la extracción de componentes no proteicos, los cuales coprecipitan con las proteínas bajando así la calidad del aislado proteico (Callisaya & Alvarado, 2009).

2.2.1.2 Segunda etapa precipitación isoeléctrica

“El punto isoeléctrico es el pH en donde la proteína no tienen carga eléctrica, es incapaz de desplazarse en un campo eléctrico y por tanto no existe repulsión electrostática entre las moléculas de proteína vecinas y tienden a precipitar” (Serpa, Hincapié, & Álvarez, 2014).

Las proteínas en presencia de solventes orgánicos y a pH alcalinos, sufren una reorganización, donde los grupos hidrofóbicos (radicales apolares) son expuestos. Mientras los residuos hidrofílicos pasan a ocupar el interior de la molécula proteica. Es decir, las interacciones entre los residuos hidrofóbicos aumentan, provocando un estado de alta agregación y consecuentemente, la precipitación de las proteínas (Uvarova & Arellano, 2010).



Figura 6 Precipitado proteico de la quinua y cañihua (Callisaya & Alvarado, 2009)

2.2.1.2.1 Efecto de la alcalinización en la extracción de la proteína de quinua

El factor importante que afecta la estructura y la propiedad funcional de las proteínas es el pH, ya que cambia la carga de la proteína provocando un alto grado de desnaturalización, esto hace posible obtener proteínas desplegadas bajo el efecto del pH.

Según Valenzuela et al (2013) mencionan que el tratamiento alcalino genera una mayor exposición de los grupos (S-S), que facilitan su asociación con el agua. Los grupos funcionales como grupos sulfhídrico e hidrofóbicos, permiten asociaciones de la proteína de cadena a cadena y el establecimiento de nuevos enlaces covalentes.

2.2.2 MÉTODO ENZIMÁTICO

El método enzimático presenta indudables ventajas frente a la hidrólisis química ácida o alcalina, entre ellas su selectividad, ya que son específicas para un determinado de enlace y por tanto, es poco frecuente la aparición de productos de degradación. Además, su hidrólisis ocurre en condiciones moderadas de

temperatura de (40 a 60) °C, pH de (4 a 8) y no se añaden sustancias extrañas. Lo más importante, se conserva el valor nutritivo (Campos, Guerrero, & Betancur, 2013).

2.2.2.1 **Enzimas**

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones biológicas, transforman las sustancias en fracciones más pequeñas, debido a su poder de activación específica en el sustrato, que es capaz de unirse al centro catalítico de la enzima y transformar en un producto mediante una serie de pasos denominados mecanismo enzimático (Caiza, 2011).

Además, las enzimas son muy importantes en el ámbito alimenticio, ya que su aplicación en varios procesos permite: digerir alimentos, regenerar tejidos, catalizar la transformación de sustancias, ya sea en fracciones pequeñas o síntesis de moléculas, entre otras funciones según (Beltrán & Herreño, 2010).

La enzima utilizada en esta investigación es una diastasa, cuya función es catalizar y descomponer el almidón en azúcares, que son más fáciles de digerir.

2.2.2.1.1 Diastasa

Las enzimas diastásicas degradan y convierten el almidón en azúcares fermentables y dextrinas no fermentables, estas son Alfa-amilasas y Beta-amilasas que trabajan en forma conjunta para descomponer el almidón. Son de origen vegetal, se encuentra en determinadas semillas germinadas y su función es catalizar la hidrólisis, primero del almidón en dextrina e inmediatamente en azúcares o glucosa (Casallas, Gonzales, Rodriguez, & Suta, 2015).

2.2.2.2 **Cinética enzimática**

La actividad enzimática definida como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto, un micromol de sustrato por minuto, en las condiciones de pH, temperatura óptima para la enzima; la concentración de sustrato debe ser tal que la enzima se encuentre actuando con su velocidad máxima. Es decir, la velocidad de una reacción enzimática depende de la concentración de enzima para

formar un complejo enzima-sustrato (ES), posteriormente de este complejo se libera tanto el producto como la enzima, dejándola disponible para combinarse con una nueva molécula (Villacrés & Ruales, 2014).

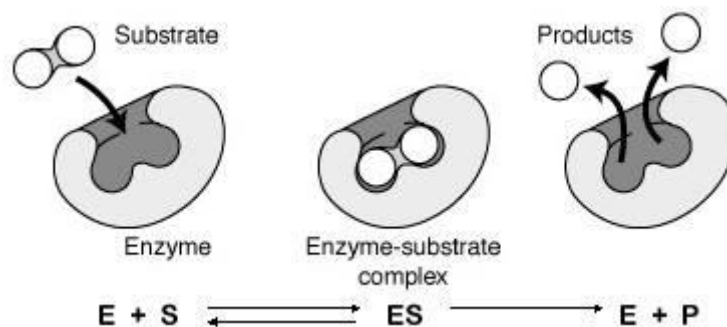


Figura 7 Reacción enzimática (Lahl & Braun, 1994)

2.2.2.2.1 Efecto del pH

Según Quirasco et al (2012) mencionan que la actividad de las enzimas depende fuertemente de la concentración de iones en el medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos de la proteína. Es decir, el pH influye en la estructura tridimensional de la proteína y a su vez, sobre la afinidad que tenga la enzima por el sustrato, si la enzima se encuentra en un pH muy alejado del óptimo se alterará su estructura secundaria y terciaria como consecuencia de la protonación o desprotonación de los residuos de aspártico, glutámico, lisina, arginina e histidina principalmente la consecuencia será el desplegamiento o desnaturalización permanente o irreversible de la proteína.

2.2.2.2.2 Efecto de la temperatura

La velocidad de las reacciones enzimáticas, se incrementa con la temperatura dentro del intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica, a medida que aumenta la temperatura se incrementa también la velocidad de reacción y la inactivación de la enzima por un proceso de desnaturalización al que son sensible la mayor parte de ellas. Cuando las condiciones de reacción de la enzima se alejan de la temperatura óptima, la enzima pierde su capacidad catalítica en un proceso que puede ser reversible o irreversible (Badui, 2013).

2.2.2.2.3 Efecto de la concentración de sustrato

Una enzima funciona de manera más eficiente cuando la concentración de sustrato está en exceso en relación con el concentrado de enzima. Esto se debe a que las colisiones con el reactivo son más frecuentes, asegurando así que la mayor cantidad de enzima se encuentre activa, en estas condiciones el producto obtiene la máxima velocidad. En caso de que la concentración de sustrato sea menor, la velocidad de reacción disminuye y por lo tanto la enzima presenta baja reacción catalítica ante el sustrato (Quirasco & López, 2012).

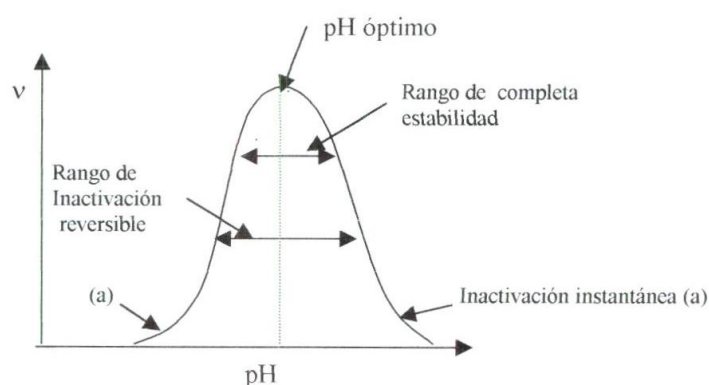


Figura 8 Actividad enzimática (Ricardson & Hyslop, 1985)

2.2.2.3 Hidrólisis enzimática del almidón

La hidrólisis enzimática es el proceso de transformación del almidón en azúcares; dicho reacción es catalizada por enzimas amilasas, cuya función es romper las moléculas del almidón.

Es decir, la descomposición del almidón se lleva a cabo con enzimas, realizando primero la licuefacción de almidón, luego la conversión del almidón en glucosa o sacarificación. Mediante la licuefacción, se liberan los gránulos de almidón, pues a consecuencia del calor, éste absorbe agua y se hincha, ocasionando la ruptura de la pared celular permitiendo la gelatinización del almidón; luego el proceso de

sacarificación, que da el fraccionamiento de cadenas de azúcares largos como son: dextrinas, triosas y maltosa, hasta obtener glucosa (Zambrano, 2013).

2.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LAS PROTEÍNAS

La hidrólisis enzimática de las proteínas es una reacción consistente, catalizada por enzimas que permiten la ruptura de los enlaces péptidos que estructuran la proteína. Es decir, por cada enlace roto, provoca la liberación de grupos aminos y carboxilos terminales surgiendo de la dependencia del estado de preconización del pH (Figuroa, Zapata, Buelvas, & Ortiz, 2012).

Por lo tanto, la obtención de péptidos más pequeños por medio de la hidrólisis de la proteína, permiten mejorar ciertas propiedades funcionales como la solubilidad en un amplio rango de pH, característica significativa para el enriquecimiento de bebidas ácidas con proteínas, entre otros (Villacrés & Ruales, 2014).

Dado que, el uso de enzimas proteolíticas para modificar las propiedades de las proteínas es prometedor en la industria alimentaria. A continuación se detalla las sus cualidades.

2.3.1 ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

Según Figuroa et al (2012) mencionan que las enzimas proteolíticas hidrolizan los enlaces peptídicos con diferentes grados de intensidad y selectividad, atacando preferentemente a ciertos tipos de uniones peptídicas, estas pueden ser endopeptidasas o exopeptidasas

Es decir, las endopeptidasas atacan los enlaces peptídicos internos de las proteínas en fragmentos más pequeños y las exopeptidasas hidrolizan específicamente las uniones peptídicas en que participan los aminoácidos terminales de las cadenas polipeptídicas (Rickey, 2015).

De acuerdo a la importancia de las enzimas en el ámbito alimenticio, la enzima utilizada en la hidrólisis de las proteínas es una proteasa (papaína), cuya función es ayudar a digerir las proteínas contenidas en los alimentos. A continuación se detalla más sobre la enzima utilizada.

2.3.1.1 **Papaína**

Es una enzima endopeptidasa que es empleada en el ablandamiento de carnes, proviene del látex de la papaya, su estabilidad y actividad en solución cubre un amplio rango de condiciones: pH 4 hasta 10 y temperatura sobre los 70°C. Además, posee una amplia especificidad en sustratos, es decir hidroliza tanto las proteínas como los péptidos pequeños (González, Mojica, Olmos, Sánchez, & Tapia, 2012).

Según Villacrés (2001) menciona que la enzima es muy estable a elevadas temperaturas en comparación con otras enzimas proteolíticas, es muy activa en la hidrólisis de amidas y ésteres rara vez produce un sabor amargo en los hidrolizados proteicos.

2.3.1.2 **Flavourzyme**

Es una exopeptidasa de *Aspergillus oryzae*, útil para la hidrólisis de las proteínas bajo condiciones neutras o ligeramente ácidas, también puede ser usada para el desamargado de hidrolizados proteicos. Además, su pH óptimo del complejo enzimático está en el rango de 5,0-7,0 y la temperatura está alrededor de 50°C. Actúa en los enlaces peptídicos al final de una cadena de péptidos los terminales grupo carboxilo y grupos amino dando a lugar a aminoácidos libres (Villacrés, 2001).

2.3.2 **DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS**

La palabra desnaturalización indica que la estructura se aleja de la forma nativa debido a un importante cambio en su conformación tridimensional, producida por movimientos de los diferentes dominios que presenta la proteína. Sin embargo, este cambio conformacional trae como consecuencia pérdidas de estructura secundaria, terciaria, cuaternaria pero no cambios de la estructura primaria, es decir que la desnaturalización no implica una hidrólisis del enlace peptídico (Badui, 2013).

Por lo tanto, las bajas estabilidades conformacionales de las proteínas nativas lo hacen fácilmente susceptibles a la desnaturalización; todas las proteínas desnaturalizadas tienen la misma conformación, muy abierta y con una interacción

máxima con el disolvente, por lo que una proteína soluble en agua cuando se desnatura se hace insoluble y precipita. La desnaturación de la proteína se produce por cambios de temperatura o variaciones de pH (Blanco, 2010).

2.3.2.1 Cambios de temperatura

Para Fennema (2010) las proteínas sufren diversos grados de desnaturación que pueden afectar las propiedades funcionales y nutricionales en los alimentos. Es decir, la desnaturación es un mecanismo que implica las desestabilizaciones de sus interacciones no covalentes, los enlaces de hidrógeno, las interacciones electrostáticas, que se desequilibran a temperaturas altas y ganan estabilidad a temperaturas bajas.

En otras palabras, la aplicación de calor es uno de los agentes desnaturantes que se utilizan con mayor frecuencia, afecta la estabilidad de las interacciones no covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues a medida que se eleva la temperatura la molécula pierde su delicado balance de los enlaces que mantienen su equilibrio y por consiguiente sus propiedades funcionales (Zhun & Damodaran, 2011).

2.3.2.2 Cambios por pH

El cambio de pH del ambiente natural o fisiológico de las proteínas puede acarrear modificaciones importantes en su conformación, debido a cambios de ionización de las cadenas laterales cargadas, que afectan el número de puentes salinos que estabilizan la estructura nativa de la proteína (Badui, 2013).

Es decir, las proteínas son desnaturadas, a pH extremos alcalinos que a pH extremos ácidos, esto debido a la ionización de los grupos sulfhidrido, fenólicos y carboxilos, que ocasionan el desplegamiento de las cadenas polipeptídicas al intentar de exponerse al ambiente acuoso. Por lo tanto, en la hidrólisis de las proteínas, a medida que aumenta el pH, la temperatura, la enzima pierde su actividad enzimática con el sustrato; cómo se muestra en la figura 8 (Voet, Voet, & Pratt, 2010).

2.4 HIDROLIZADOS PROTEICOS Y SUS APLICACIONES

Los factores principales que determinan el uso nutricional de los hidrolizados son: el valor nutricional, costo, sabor, antigenicidad y solubilidad. Como también, presentan una buena digestibilidad, absorción, aportan propiedades nutricionales y funcionales de interés que lo hacen atractivo para la elaboración de productos alimenticios.

Además, la utilización de proteínas vegetales hidrolizadas en la industria alimenticia presentan propiedades funcionales tales como: viscosidad baja, dispersión y alta solubilidad, cualidades que mejoran características de muchos productos alimenticios (Segura, López, Chel, & Betancur, 2010).

Por lo tanto, los hidrolizados tienen una aplicación muy amplia: en el campo farmacéutico, en la elaboración de carnes picadas, mezcla para pasteles, cremas para el café, leche, mayonesa, aderezos para ensalada, postres congelados, como también en la formulación en dietas especiales para personas con alergias a proteínas o que son incapaces de digerir y absorber (Villacrés & Ruales, 2014).

2.4.1 OBTENCIÓN DE UN HIDROLIZADO PROTEICO

Los hidrolizados proteicos se obtienen mediante el empleo de enzimas proteolíticas que descomponen a las proteínas en fragmentos más pequeños por hidrólisis y son utilizados en la industria alimenticia debido a que imparten características deseables a un alimento (Ávila, 2011).

Con respecto, al proceso para la obtención de proteína hidrolizada, según Acuña & Simbaña (2010) se llevó a cabo en un reactor con control de temperatura, agitación y pH para la hidrólisis enzimática; asimismo se utilizó como sustrato proteína aislada con un relación (1:20 p/v), la suspensión se ajustó a pH 7,0 con pequeñas cantidades de NaOH 1N, se trabajó con dos enzimas proteolíticas papaína y flavourzyme a temperatura de 50°C que permite hidrolizar enlaces internos y externos de las proteínas.

2.4.2 GRADO DE HIDRÓLISIS DE UN HIDROLIZADO PROTEICO

El grado de hidrólisis es la propiedad fundamental de un hidrolizado que determinar el porcentaje de enlaces peptídicos rotos, en relación a la proteína original; como también sus características y por consiguiente su posible uso (Gallegos, 2012).

Los hidrolizados proteicos que se producen para uso en la alimentación pueden agruparse en tres grandes grupos:

Tabla 5 Principales tipos de hidrolizados proteicos y sus aplicaciones

Hidrolizado	Grado de Hidrólisis	Aplicación
bajo grado de hidrólisis	1 al 10 %	Mejora de las propiedades funcionales
Grado de hidrólisis	Variable	Mejora del sabor
(alto grado de hidrólisis)	> 10 %	Como suplemento proteico en alimentación especializadas (dietas medicas)

Fuente: Los hidrolizados proteicos en alimentación, (Millán & Vioque, 2010).

Con respecto a la tabla 5, los hidrolizados que alcanzan un alto grado de hidrólisis > 10%, son considerados como hidrolizados extensivos, que están destinados a una alimentación especializada, bien como suplemento proteico o en dietas médicas (Zapata, 2011).

2.4.3 PROPIEDADES FUNCIONALES DE UN HIDROLIZADO PROTEICO

Según Pinciroli (2011) el término “Propiedad Funcional”, se puede definir como toda propiedad no nutricional que imparte a un alimento o ingrediente determinadas características sensoriales, físicas durante su preparación, procesamiento, almacenamiento y consumo del alimento.

Entre las propiedades físicas y químicas que gobiernan la funcionalidad de las proteínas se incluyen el tamaño, forma, la composición, secuencia de aminoácidos, la carga neta y su distribución, carácter hidrofobia/ hidrofilia, conformación de sus estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, el grado de flexibilidad-rigidez y la

capacidad de interactuar con otros componentes para contribuir a las características deseadas de un alimento (Fennema, 2010).

Las propiedades de las proteínas que dependen de las interacciones proteína-agua son:

2.4.3.1 Solubilidad

La solubilidad de las proteínas, es la manifestación termodinámica del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente. Es decir, la solubilidad supone: separación de moléculas del disolvente, separación de moléculas de proteína y dispersión de estas con máxima interacción entre proteína y disolvente (Fennema, 2010).

Según Pinciroli (2011) para ser soluble, la proteína debe interactuar cuanto sea posible con el disolvente (puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo, e interacciones iónicas). Sin embargo, la solubilidad de las proteínas se ve afectada por las condiciones de solución como: el pH, fuerza iónica, temperatura, entre otras, que a continuación se detallan:

-Influencia con el pH.- a valores superiores o inferiores al punto isoeléctrico, la proteína tiene carga eléctrica negativa o positiva, que pueda interactuar las moléculas de agua con estas cargas contribuyendo así, a la solubilización.

-Influencia con la temperatura.- a pH y fuerza iónica constantes, la solubilidad de las proteínas aumenta con la temperatura, desde 0 a 40 y 50 °C.

-Influencia de la fuerza iónica.- a concentraciones salinas elevadas, la solubilidad de la proteína desciende, provocando la precipitación. Este efecto (precipitación por salado) es consecuencia de la competencia entre la proteína y los iones salinos por las moléculas de agua necesarias para sus respectivas solvataciones (Gálvez, Flores, & González, 2013).

Por otra parte, la solubilidad de una proteína hidrolizada, puede atribuir a la formación de péptidos más pequeños y a la mayor exposición de los extremos amino y carboxilo ionizables grupos, que mejoran la afinidad de la proteína con las moléculas de agua (Villacrés & Ruales, 2014).

2.4.3.2 Capacidad de retención de agua

Para Gálvez (2012) la capacidad de retención de agua, es la habilidad que presenta la proteína de retener agua dentro su matriz, cuando es sometida a fuerzas externas como la centrifugación o compresión.

Esta propiedad funcional, depende no solo del tamaño de los poros y de lo capilares, sino también de las características entre moléculas proteicas como: interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrogeno, puentes disulfuro, ácidos, bases presentes. Asimismo se ve influida por otros parámetros del medio como: fuerza iónica, tipos de sales, pH, temperatura y el tiempo consumido en alcanzar el equilibrio (Lara, Chaparro, Sandoval, Sosa, & Gil, 2015).

Con respecto a los factores ambientales, las proteínas adquieren cargas a valores alejados del punto isoelectrico, generando interacciones hidrofílicas que permite atrapar moléculas de agua y producir una mejor hidratación. Así mismo, una baja concentración de sales (< 0,2M) incrementa la capacidad de ligar agua, pero cuando hay altas concentraciones de estas, el agua se liga a los iones de sales, deshidratando a las proteínas (Gálvez, Flores, & González, 2013).

Por lo tanto, la capacidad de retención de agua, para aplicaciones en alimentos, confiere un efecto de frescura, suavidad, jugosidad y textura en productos horneados o embutidos.

2.4.3.3 Capacidad de retención de aceite

Para Atalah & Araya (2010) la capacidad de ligar grasa por parte de las proteínas depende esencialmente de la parte hidrofóbica que permite el atrapamiento de la grasa dentro de la proteína y se determina como los mililitros de grasa que son

absorbidos por gramo de proteína, cuando la muestra se mezcla con un exceso de grasa.

Es decir, Las proteínas hidrofóbicas fijan mayores cantidades de aceite, en este fenómeno desempeñan un papel fundamental las interacciones proteína - lípido, lo cual implica enlaces hidrófobos entre las cadenas alifáticas a polares del lípido y las regiones apolares de las proteínas (Villacrés & Ruales, 2014).

Por lo tanto, la capacidad de retención de aceite, para aplicaciones en alimentos confiere un efecto de jugosidad, suavidad y mejora textura en productos cárnicos, pero una baja retención proporciona una sensación no grasosa en productos fritos.

2.4.3.4 Capacidad espumante

Para Bermúdez (2013) las espumas son dispersiones de gotas de aire en una fase continua líquida o semi-sólida, formando una película cohesiva de aire- interface agua. La formación de espuma la proteína debe ser soluble en agua y flexible, en donde el batido presupone fuerzas mecánicas más intensas como las de cizallamiento para conseguir una dispersión más uniforme de aire y viscosidad para prevenir su subsecuente ruptura y coalescencia.

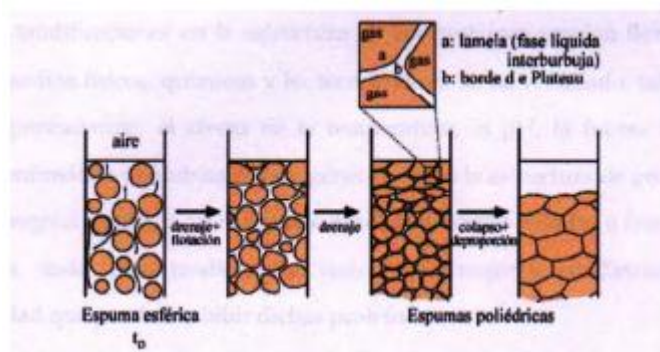


Figura 9 Etapas de la formación de Espuma, (Pincioli, 2011)

El incremento de volumen de espuma en un hidrolizado es principalmente por la alta solubilidad que presenta la proteína lo que mejora las propiedades espumantes, debido a que producen un mejor desdoblamiento, concentración y tamaño de la

burbuja, que permite un aumento el espesor de la película adsorbida, gracias al incremento de las interacciones proteína-proteína (Zapata, 2011).

Martínez et al (2011) indican que la capacidad de formación de espuma se relaciona con el aumento en la carga neta de las proteínas lo cual debilita las interacciones hidrofóbicas e incrementa la flexibilidad de las proteínas, esto conduce que estas difundan más rápido la interface agua-aire y encapsule el aire aumentando la capacidad espumante.

2.4.4 PROPIEDADES NUTRICIONALES DE UN HIDROLIZADO PROTEICO

Las proteínas representan uno de los componentes principales de los alimentos, tanto desde un punto de vista funcional como nutricional. Son el principal componente estructural de las células y tejidos, siendo necesarias para el crecimiento y desarrollo corporal, para el mantenimiento y reparación de tejidos (Campos, Guerrero, & Betancur, 2013).

Por otra parte, las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos esenciales que pueden ser sintetizados para realizar las funciones del organismo. (Gálvez, Flores, & González, 2013).

La propiedad nutricional de un hidrolizado dependerá de su calidad de proteína y su digestibilidad, que es muy importante, ya que permite la asimilación y el aprovechamiento de las proteínas ingeridas, la misma que es absorbida por el organismo después de la digestión (Munive, 2009).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La investigación se realizó en los laboratorios de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, estación experimental Santa Catalina (INIAP).

Descripción del lugar

Provincia	Pichincha
Cantón	Mejía
Parroquia	Cutuglagua
Lugar	Laboratorios de nutrición y calidad
Situación Geográfica	
Longitud	78° 23' O
Altitud	3058 m.s.n.m
Latitud	00° 22' S.
Longitud	78° 08' Oeste
Pluviosidad	1.400 mm anual

Fuente: Estación Izobamba, INHAMI, Quito, Ecuador

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Materia prima

La quinua *Chenopodium quinoa willd* variedad tunkahuan, fue proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), al departamento de Nutrición y Calidad.

Reactivos

- Enzima Diastasa (from fungi) for biochemistry.
- Enzima Papain (Eialbumin- Verdaungsvermogen).
- Hidróxido de sodio (NaOH) 1N al 99%
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) grado técnico 98%

- Ácido Clorhídrico (HCl) 1N grado técnico 37%
- Agua destilada
- Ácido cítrico grado alimenticio
- Reactivo Carrez I (Ferrocianuro de potasio trihidratado) al 15% en agua destilada.
- Reactivo Carrez II (sulfato de zinc heptahidratado) al 30% en agua destilada.
- Ácido bórico al 4%
- Zinc en gránulos
- Sal de sodio caseína de la leche bovina
- Tripsina: pancreáticos de cerdo, tipo IX
- Chymotripsina: pancreática bovina, tipo II
- Peptidasa: intestinal porcina
- Hexano al 99%

Equipos

- Refractómetro resolución 0.5 % (marca Atago modelo Nar-1T líquido).
- Termómetro escala 50-150 ° C (Pocket size waterproof modelo 9314).
- Molino Ciclónico UDY (Belt Drive Train 12,600 RPM, 3/4 hp Motor, modelo 3010-019).
- Rotavapor (JP selecta con bomba vacío incorporada: -0,80 bar, 0-120 rpm, hasta 100°C, peso 28kg).
- Macerador (Micromat co S.A de capacidad de 4 litros)
- Balanza electrónica (Adventure Pro peso min:210 g (7.41 oz)
- pH metro (marca Metrohm 827 pH lab, 230 V)
- Centrifugadora (modelo K ¾ hp) capacidad de 400ml a 10000 rpm
- Estufa de aire forzado (temperatura: Mín.: 5 °C (41 °F) Máx.: 250 °C (482 °F), capacidad Mín.: 43 l (11.36 gal), Máx.: 250 l (66.04 gal)
- Liofilizador (marca labconco Freeze dry sistema, capacidad 6 litros y sistema de refrigeración 1/2 hp, 10⁻³ mBar)
- Congelador vertical para alimentos.

- Polarímetro de 200mm ángulo de rotación -180°, 0, +180.
- Aparato de digestión y destilación kjeldahl (Foss Tecator Kjelttec 8400 Analyzer Unit (analysis time: 3.5 min. at 30mg nitrogen-6.5 min. at 200mg nitrogen, distillation capacity: approximately 40ml/min).
- Licuadora 110v.

Materiales

- Papel filtro
- Equipo de protección personal (mandil, mascarilla, cofia, guantes)
- Toallas de cocina
- Cubetas
- Tubos graduados para centrifugadora
- Papel aluminio
- Hielo
- Cuchara metálica
- Detergentes y desinfectantes
- Libreta de anotaciones
- Buretas
- Soporte universal
- Balones kjeldahl de 50 ml
- Erlenmeyer de 250 ml
- Agitadores magnéticos
- Embudos platicos

3.3 MÉTODOS

DISEÑOS DE LA INVESTIGACIÓN

A continuación se detalla los factores y los niveles utilizados, en cada uno de los diseños ocupados en esta investigación, basándose en los objetivos propuestos:

3.3.1 EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO A PARTIR DE LA QUINUA

Para la obtención de un aislado proteico, se aplicó los métodos de precipitación isoelectrica y método enzimático, que a continuación se detalla la metodología utilizada en la precipitación isoelectrica.

3.3.1.1 Método tradicional, precipitación isoelectrica para la obtención de un aislado proteico.

El método consiste en la solubilización de la proteína a pH alcalino y su posterior precipitación, Esta metodología permite aislar, concentrar, la máxima recuperación de proteína separándola de los polisacáridos insolubles y la fibra cruda.

La investigación se realizó a partir de harina de quinua en suspensión acuosa, con una relación (1:10 p/v), se aplicó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial AxB, con 3 repeticiones, 18 unidades experimentales, cada una con 200g harina de quinua. A continuación se detalla la fase experimental.

3.3.1.1.1 *Solubilización alcalina de la proteína con (NaOH) 1N, primera fase (diseño 1)*

Factores y niveles de estudio para la solubilización de la proteína.

Cuadro 1 Solubilización de la proteína con (NaOH) 1N.

Factor A: Tiempo de solubilidad	Factor B: pH
A₁: 1 horas	B₁: 8,0
A₂: 2 horas	B₂: 9,0
	B₃: 10,0

Cuadro 2 Tratamientos de estudio para la solubilización de la proteína con (NaOH) 1N, primera fase.

TRATAMIENTOS	COMBINACIONES	REPRESENTACIONES
T_{B1}	A1B1	1 horas a pH 8
T_{B2}	A1B2	1 horas a pH 9
T_{B3}	A1B3	1 hora a pH 10
T_{B4}	A2B1	2 horas a pH 8
T_{B5}	A2B2	2 horas a pH 9
T_{B6}	A2B3	2 horas a pH 10

T_B: Tratamiento Básico

Análisis estadístico para la solubilización de la proteína con (NaOH) 1N primera fase.

Cuadro 3 Esquema del análisis de varianza para la solubilización de la proteína con (NaOH) 1N, primera fase.

FUENTE DE VARIACIÓN	Gl
Total	17
Tratamientos	5
A (Tiempo de solubilidad)	1
B (pH)	2
AxB	2
Error experimental	7

Para los factores e interacciones significativas se aplicó la prueba de Tukey al 5%.

Variables y métodos a evaluar en la solubilización de la proteína con (NaOH) 1N primera fase.

Contenido de sólidos solubles.- Se realizó en el proceso de solubilización de la proteína, tomando muestra cada 30 minutos hasta un máximo de 2 horas con un refractómetro, mediante el Método Gallo (1997), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP (Anexo 1).

3.3.1.1.2 *Precipitación isoelectrica de la proteína a pH 4.5, segunda fase (diseño 2)*

Se realizó a partir de la proteína solubilizada en suspensión, separada como sobrenadante, luego se precipitó en su punto isoelectrico para obtener proteína aislada. Además, se aplicó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial AxB, con 3 repeticiones, 18 unidades experimentales cada una de 1 litro de proteína solubilizada. A continuación se detalla los factores y niveles, utilizados en esta metodología.

Factores y niveles de estudio de la precipitación isoelectrica (segundo diseño)

Cuadro 4 Precipitación isoelectrica a (pH 4.5) de la proteína (segunda fase).

Factor A: Tipo de ácido		Factor B: Número de lavados	
A1:	Ácido cítrico	B1:	Sin lavado
A2:	Ácido clorhídrico	B2:	Un lavado
		B3:	Dos lavados

Cuadro 5 Tratamientos de estudio para la precipitación isoelectrica a (pH 4.5) de la proteína (segunda fase).

TRATAMIENTOS	COMBINACIONES	REPRESENTACIONES
T_{A1}	A1B1	Ácido cítrico, sin lavado
T_{A2}	A1B2	Ácido cítrico, con un lavado
T_{A3}	A1B3	Ácido cítrico, con dos lavados
T_{A4}	A2B1	Ácido clorhídrico, sin lavado
T_{A5}	A2B2	Ácido clorhídrico, con un lavado
T_{A6}	A2B3	Ácido clorhídrico, dos lavados

T_A: Tratamiento Ácido

Análisis estadístico para la precipitación isoelectrica a pH 4.5 de la proteína, (segunda fase).

Cuadro 6 Esquema del análisis de varianza para la precipitación isoelectrica a pH 4.5 de la proteína (segunda fase).

FUENTE DE VARIACIÓN	GI
Total	17
tratamientos	5
A (Tipo de ácido)	1
B (número de lavados)	2
AXB	2
Error experimental	32

Para los factores e interacciones significativas se aplicó la prueba de Tukey al 5%.

Variables y métodos a evaluar para la precipitación isoelectrica a pH 4,5 de la proteína, (segunda fase)

Obtenido el aislado proteico de quinua por precipitación isoelectrica, se evaluó las siguientes variables que a continuación se detallan.

Rendimiento.- Se determinó el rendimiento, una vez obtenido el aislado de quinua, ya liofilizado mediante la siguiente formula:

Ecuación 1 Rendimiento del aislado proteico por precipitación isoelectrica.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100 \quad [1]$$

Contenido de Proteína.- Se determinó utilizando el método Kjeldahl, donde se obtuvo la concentración de proteína que posee el aislado de quinua mediante el método 955.39. (A.O.A.C, 1984) adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad INIAP (Anexo 2).

Proceso para la obtención del aislado proteico, por precipitación isoeléctrica

Para la obtención de un aislado proteico por precipitación isoeléctrica, se siguió el siguiente procedimiento.

Mezcla y agitación.- se preparó suspensiones de harina y agua con relación 1:10 p/v, el cual mediante el uso del agitador logró homogenizar dicha mezcla.

Solubilización alcalina.- la suspensión acuosa fue regulada con Na (OH) 1N a pH a 8, 9, 10 por un tiempo de 1 a 2 horas.

Centrifugación.- homogenizada la mezcla, se centrifugó a 10000 rpm por 15 minutos para lo cual se rescató el sobrenadante del precipitado, en lo posterior se almacenó hasta realizar el mismo proceso de mezcla y agitación del precipitado para la segunda extracción.

Precipitación.- se reunió todo el sobrenadante de la primera y segunda extracción, para regular a pH a 4.5 con HCl 1N o ácido cítrico, hasta llegar a su punto isoeléctrico, luego se agitó y centrifugó en las mismas condiciones dadas anteriormente separando el sobrenadante del precipitado.

Lavado.- se rescató el precipitado, al cual se le reguló el pH a 7 óptimo para los alimentos, posteriormente se realizó dos lavados con agua destilada con la finalidad de obtener una proteína más pura y libre de sustancias ácidas.

Liofilización.- Se realizó una vez obtenida la proteína rescatada, congelada a -15°C , donde se sometió al proceso de liofilización por un tiempo mínimo de 120 horas a -37°C y a 9,8 KPa de presión, una vez secada la proteína se almacenó en fundas.

3.3.1.2 *Método enzimático, para la obtención de un aislado proteico de quinua, (Diseño 3).*

La metodología que se utilizó para la obtención del aislado proteico, permite la degradación del almidón en azúcares, dicha transformación es catalizada por enzimas a condiciones moderadas de pH, temperatura que se requiere para la hidrólisis.

Se aplicó un diseño completamente al azar en arreglo factorial AxBxC, con 3 repeticiones, 24 unidades experimentales, cada una de 200g de harina de Quinua.

Factores y niveles de estudio para la obtención de un aislado proteico por vía enzimática.

Cuadro 7 Obtener un aislado de quinua por vía enzimática

Factor A: concentración de enzima (Diestasa)	Factor B: temperatura °C	Factor C: pH
A1: 0,025g	B1: 60	C1: 6.5
A2: 0,050g	B2: 70	C2: 7.5

Cuadro 8 Tratamientos de estudio para la obtención de un aislado de quinua por vía enzimática

TRATAMIENTOS	COMBINACIONES	REPRESENTACIONES
T_{E1}	A1B1C1	0,025g a 60°C con pH 6.5
T_{E2}	A1B1C2	0,025g a 60°C con pH 7.5
T_{E3}	A1B2C1	0,025g a 70°C con pH 6.5
T_{E4}	A1B2C2	0,025g a 70°C con pH 7.5
T_{E5}	A2B1C1	0,050g a 60°C con pH 6.5
T_{E6}	A2B1C2	0,050g a 60°C con pH 7.5
T_{E7}	A2B2C1	0,050g a 70°C con pH 6.5
T_{E8}	A2B2C2	0,050g a 70°C con pH 7.5

T_E: Tratamiento Enzimático

Análisis estadístico para la obtención de un aislado proteico por vía enzimática.

Cuadro 9 Esquema del análisis de varianza para la obtención de un aislado proteico de quinua método enzimático.

FUENTE DE VARIANZA	GL.
Total	23
Tratamientos	7
A (concentración de enzima)	1
B (temperatura)	1
C (pH)	1
AxB	1
AxC	1
BxC	1
AxBxC	1
Error experimental	16

Para los factores e interacciones significativas se aplicó la prueba de Tukey al 5%.

Variables y métodos a evaluar para el aislado proteico por vía enzimática.

Las variables a evaluarse en el aislado proteico de quinua por vía enzimática se detallan a continuación.

Índice refractométrico.- Se tomó cada 30 minutos pequeñas muestras de la suspensión para determinar el incremento de sólidos solubles, indicativos de la hidrólisis del almidón. Se determinó con un refractómetro, mediante método Gallo (1997), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP (Anexo 3).

Cuantificación del contenido de almidón.- Se analizó para evaluar la eficiencia de la hidrólisis del almidón que requiere separarse de la proteína. Este variable fue medida por polarimetría de acuerdo al ángulo de rotación mediante el método adaptado por el departamento de nutrición y calidad INIAP (Anexo 4).

Ecuación 2 Cuantificación de almidón en el aislado de quinua por vía enzimática

$$\% \text{ Almidón} = (a - b) \times f \% \quad [2]$$

Donde: a = ángulo de rotación de la muestra en grados

b = ángulo de rotación del blanco en grados

f = factor del almidón

Rendimiento.- Se determinó el rendimiento, una vez obtenido el aislado de quinua ya liofilizado mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 3 Rendimiento del aislado de quinua por vía enzimática

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100 \quad [3]$$

Proteína.- se cuantificó la concentración de proteína en el aislado por vía enzimática, utilizando el método Kjeldahl, según el método 955.39 (A.O.A.C, 1984), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad INIAP (Anexo 5).

Proceso para la obtención de un aislado proteico de quinua (método enzimático).

Para la obtención de un aislado proteico por vía enzimática se siguió el siguiente proceso que a continuación se detalla.

Mezcla y agitación.- Se realizó una suspensión de harina y agua con relación 1:10 (p/v) a temperaturas 60°C, 70°C; pH de 6,5; 7,5 parámetros adecuados para el desarrollo de la enzima (Diastasa) en el proceso de degradación del almidón.

Hidrólisis.- se procedió a la adición de 0,025g; 0,050g de la enzima (Diastasa) para el desdoblamiento del almidón en azúcares durante 8 horas, finalizado su proceso se llevó a 92°C por 10 minutos para la inactivación de la enzima; dicho proceso se efectuó en un macerador de 4 litros, con control de agitación, temperatura y pH para dar inicio al proceso de hidrólisis.

Centrifugación.- se realizó una vez finalizado el proceso de la hidrólisis enzimática del almidón de quinua y se tomó muestras en tubos graduados para la centrifugación durante 15 min a 10000 rpm, donde se observó la separación del sobrenadante del precipitado.

Lavado.- se tomó lo precipitado y se realizó dos lavados con la finalidad de eliminar los azúcares presentes en el aislado mediante la centrifugación, una vez finalizado el proceso fue llevado a congelación (-15°C).

Liofilización.- la liofilización se efectuó por 120 horas a -37°C y a 9,8 KPa de presión; una vez secada la proteína se almacenó en fundas.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS PARA LA OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA,

Esta metodología, se lo realizó con la finalidad de hidrolizar la proteína en enlaces peptídicos más pequeños o aminoácidos libres, lo que contribuye a mejorar ciertas propiedades funcionales y nutricionales de la proteína permitiendo su uso en el enriquecimiento de varios productos.

La investigación se realizó a partir del aislado proteico de la quinua con el mayor contenido de proteína, luego se procedió a hidrolizar la proteína. Para el análisis de los resultados se aplicó un Diseño Completamente al azar, en arreglo factorial AxBxC, con 2 repeticiones, donde se obtuvo 8 tratamientos.

Factores y niveles de estudio para la obtención de proteína hidrolizada de quinua, (diseño 4).

Cuadro 10 Obtención de proteína hidrolizada de quinua.

Factor A: concentración de enzima (papaína)		Factor B: temperatura °C	Factor C: pH		
A1:	0,0795 UA/g enzima	B1:	50	C1	5.5
A2:	0,159 UA/g enzima	B2:	65	C2	6.5

Papaína= 3, 18 UA/ mg de enzima

UA= unidad anson

Cuadro 11 Tratamientos de estudio para la obtención de proteína hidroliza de quinua.

TRATAMIENTOS	COMBINACIONES	REPRESENTACIONES
T_{H1}	A1B1C1	0,0795 UA a 50°C con pH 5.5
T_{H2}	A1B1C2	0,0795 UA a 50°C con pH 6.5
T_{H3}	A1B2C1	0,0795 UA a 65°C con pH 5.5
T_{H4}	A1B2C2	0,0795 UA a 65°C con pH 6.5
T_{H5}	A2B1C1	0,159 UA a 50°C con pH 5.5
T_{H6}	A2B1C2	0,159 UA a 50°C con pH 6.5
T_{H7}	A2B2C1	0,159 UA a 65°C con pH 5.5
T_{H8}	A2B2C2	0,159 UA a 65°C con pH 6.5

T_H: Tratamiento Hidrolizado

Análisis estadístico para la obtención de proteína hidrolizada de quinua

Cuadro 12. Esquema del análisis de varianza para la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

FUENTES DE VARIACIÓN	GI
Total	15
Tratamientos	7
A (enzima papaína)	1
B (temperatura)	1
C (pH)	1
AxB	1
AxC	1
BxC	1
AxBxC	1
Error experimental	8

Para los factores e interacciones significativas se aplicó la prueba de Tukey al 5%.

Variables y métodos de evaluación para la proteína hidrolizada de quinua

Las variables estudiadas para la obtención de proteína hidrolizada de quinua se detallan a continuación.

Grado de hidrólisis de la proteína.- Se determinó aplicando la técnica de precipitación con ácido tricloroacético (TCA) al 10 %, por el método descrito por Kim, Peter y Rhee (1990), adaptado por el departamento de Nutrición y Calidad INIAP (Anexo 6).

El grado de hidrólisis, se calculó aplicando la siguiente formula:

Ecuación 4 Grado de hidrólisis de la proteína hidrolizada

$$\text{Grado de Hidrólisis} = \frac{\text{proteína soluble con TCA al 10\%}}{\text{proteína total}} \times 100 \quad [4]$$

Índice de refracción.- Se tomó al final del proceso de hidrólisis de la proteína, para medir el grado de glucosa que posee la solución, mediante el método adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP (Anexo 7).

Proceso para la obtención de un hidrolizado proteico de quinua

El proceso utilizado para la obtención de proteína hidrolizada, se detalla a continuación.

Mezcla y agitación.- Se realizó al método que contenga mayor contenido de proteína en el aislado para hidrolizarla, luego se procedió a una suspensión de aislado y agua con relación 1:10 (p/v) a temperaturas desde 50°C, 65°C y pH (5,5; 6,5) parámetros adecuados para el desarrollo de la enzima papaína en el proceso de hidrólisis de la proteína.

Hidrólisis.- se procedió a la adición de la enzima proteasa (papaína) a concentraciones (0,0795; 0,159) UA/ g de enzima para la hidrólisis de la proteína durante 3 horas, finalizado su proceso se llevó a 92°C por 10 minutos para la inactivación de la enzima; dicho proceso se efectuó en un macerador de 4 litros, con control de agitación, temperatura y pH para dar inicio al proceso de hidrólisis.

Centrifugación.- Se realizó una vez finalizado el proceso hidrolítico; se tomó muestras en tubos graduados para su centrifugación durante 15 min a 10000 rpm, donde se observó la separación del sobrenadante del precipitado.

Congelación.- se tomó el sobrenadante el cual contiene enlaces peptídicos más pequeños, una vez finalizado el proceso fue llevado a congelación (-15°C) para su posterior proceso.

Liofilización.- se efectuó por 120 horas a -37°C y a 9,8 KPa de presión, una vez seca la proteína hidrolizada, se almacenada en fundas.

3.3.3 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL HIDROLIZADO PROTEICO

Las propiedades funcionales del hidrolizado proteico, se lo realizó con la finalidad de evaluar las características deseables que pueda impartir a un alimento o ingrediente aumentando la calidad de un producto.

Con los mejores tratamientos obtenidos de la proteína hidrolizada de quinua, se procedió a analizar los siguientes variables que se detallan a continuación.

Índice de la solubilidad.- Se analizó para medir el índice de solubilidad que posee la proteína hidrolizada y se cuantificó mediante el método Mukherjee (1989), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP (Anexo 8).

Índice de dispersibilidad de la proteína.- Se realizó una vez solubilizada la proteína hidrolizada para medir la capacidad de dispersión de ella en el agua; se cuantificó mediante el método 46-23 AACC (1974), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP (Anexo 9).

Capacidad espumante.- Se midió una vez solubilizada la proteína en agua, para medir la formación de espuma; la proteína debe ser soluble en agua y flexible. se determinó usando el método de Chau, Cheung y Whon (1977), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP (Anexo 10).

Ecuación 5 Capacidad espumante en la proteína hidrolizada

$$IV(\%) = \frac{Vf - Vo(\%)}{Vo(\%)} \times 100$$

Dónde: IV % = Incremento en volumen

Vf = Volumen Final

Vo = Volumen inicial

Capacidad de retención de agua y aceite.- Se analizó para medir la habilidad de la proteína hidrolizada en retener agua o aceite dentro de su matriz y se cuantificó usando el método de Chau, Cheung y Whon (1977), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP (Anexo 11)

Ecuación 6 Capacidad de retención de agua en el hidrolizado de proteína

$$\text{Capacidad de retencion de agua} = \frac{\text{peso de pellet hidratado} - \text{peso de muestra (b.s)}}{\text{peso de muestra (b.s)}} \quad [6]$$

Dónde: bs: base seca muestra

3.3.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES DEL HIDROLIZADO PROTEICO

La propiedad nutricional del hidrolizado proteico, se lo realizó con la finalidad de evaluar la calidad de la proteína y su digestibilidad para su asimilación y aprovechamiento.

Las variables evaluadas en las propiedades nutricionales del hidrolizado se detallan a continuación.

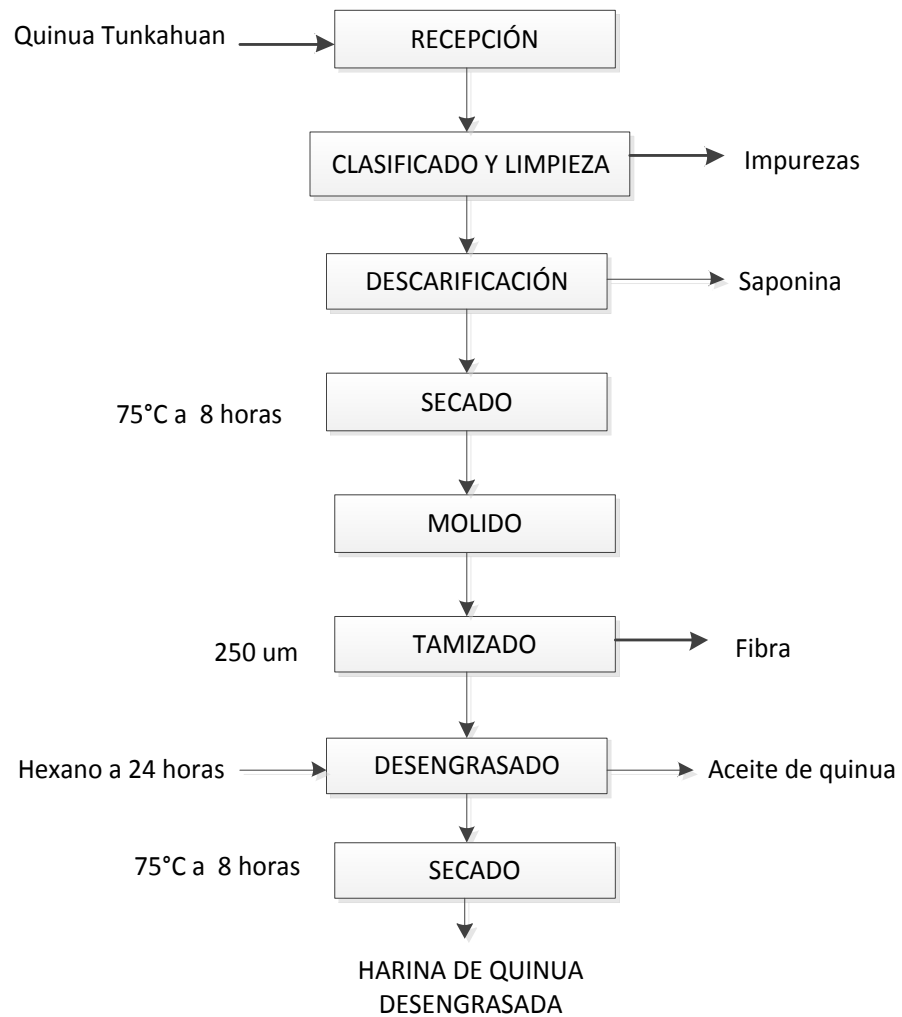
Concentración de proteína.- Se analizó al final del proceso del hidrolizado de proteína liofilizada, utilizando el método Kjeldahl; 955.39 (A.O.A.C, 1984). En donde se determinó la concentración de proteína que posee el hidrolizado de quinua (Anexo 12).

Perfil de aminoácidos.- El perfil de aminoácidos de la proteína hidrolizada de quinua, fue analizado por el laboratorio analítico UBA “Excelencia Química S.A” de la ciudad de Guayaquil, donde utilizaron el método Burbach Institute Prederivatizacion (HPLC-FLD).

Digestibilidad de la proteína.- se realizó con la finalidad de evaluar la calidad de la proteína y su grado de digestibilidad de esta. Se determinó por medio de un método in vitro donde se tomó como referencia los protocolos de Hsu (1977), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad INIAP. (Anexo 13).






3.4 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

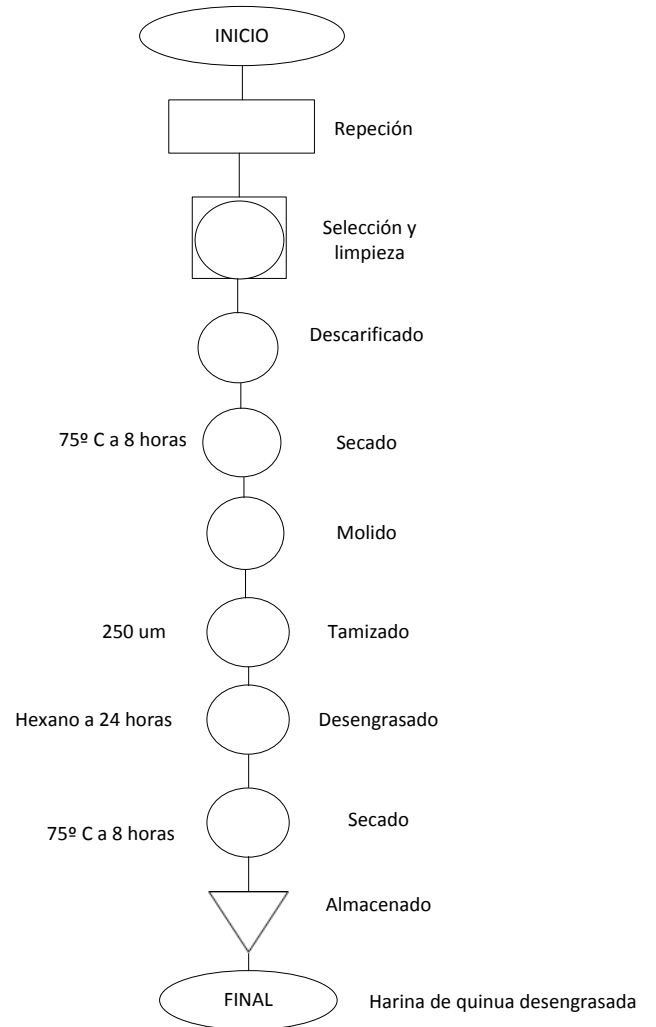
3.4.1 DIAGRAMA DE BLOQUES PARA LA ELABORACIÓN DE HARINA DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd.*



3.4.1.1 Diagrama de flujo para la elaboración de harina de quinua

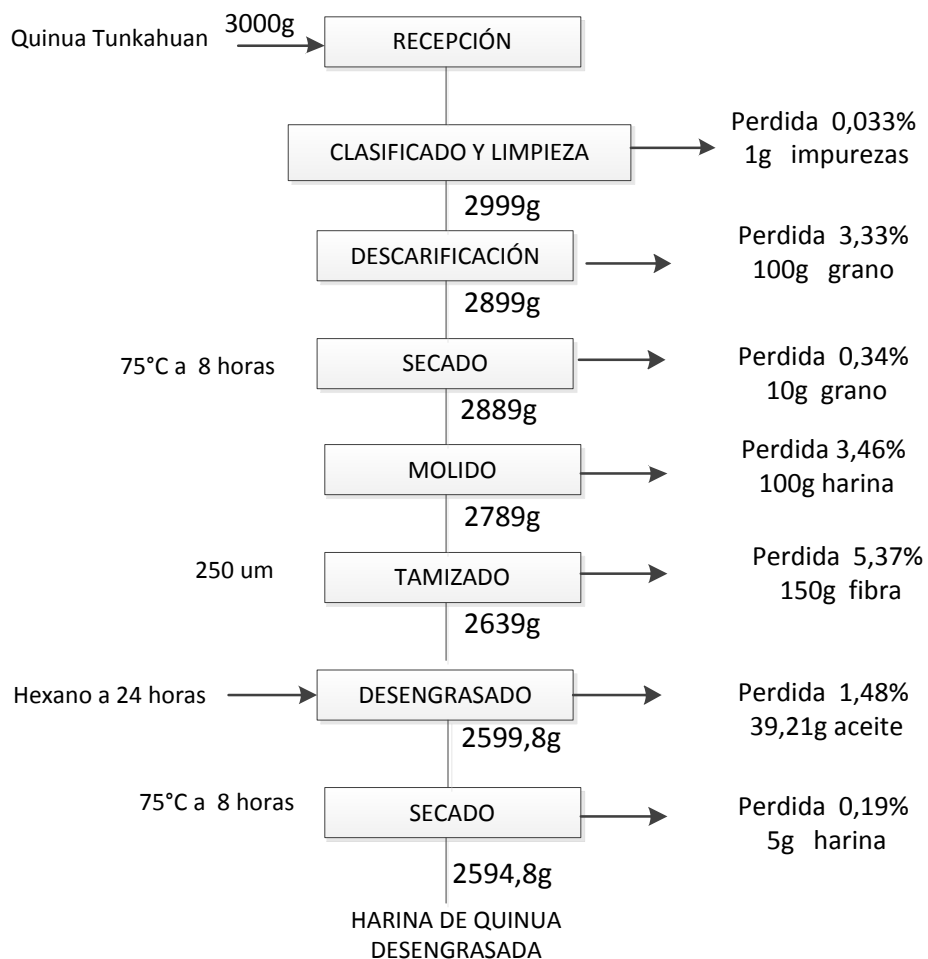
Chenopodium quinoa willd.

ACTIVIDAD	SIEMBOLO
RECEPCIÓN	
OPERACIÓN	
ALMACENAMIENTO	
INICIO O FINALIZACIÓN	
OPERACIÓN COMBINADA	



3.4.1.2 Balances de materiales para la elaboración de harina de quinua

Chenopodium quinoa willd.



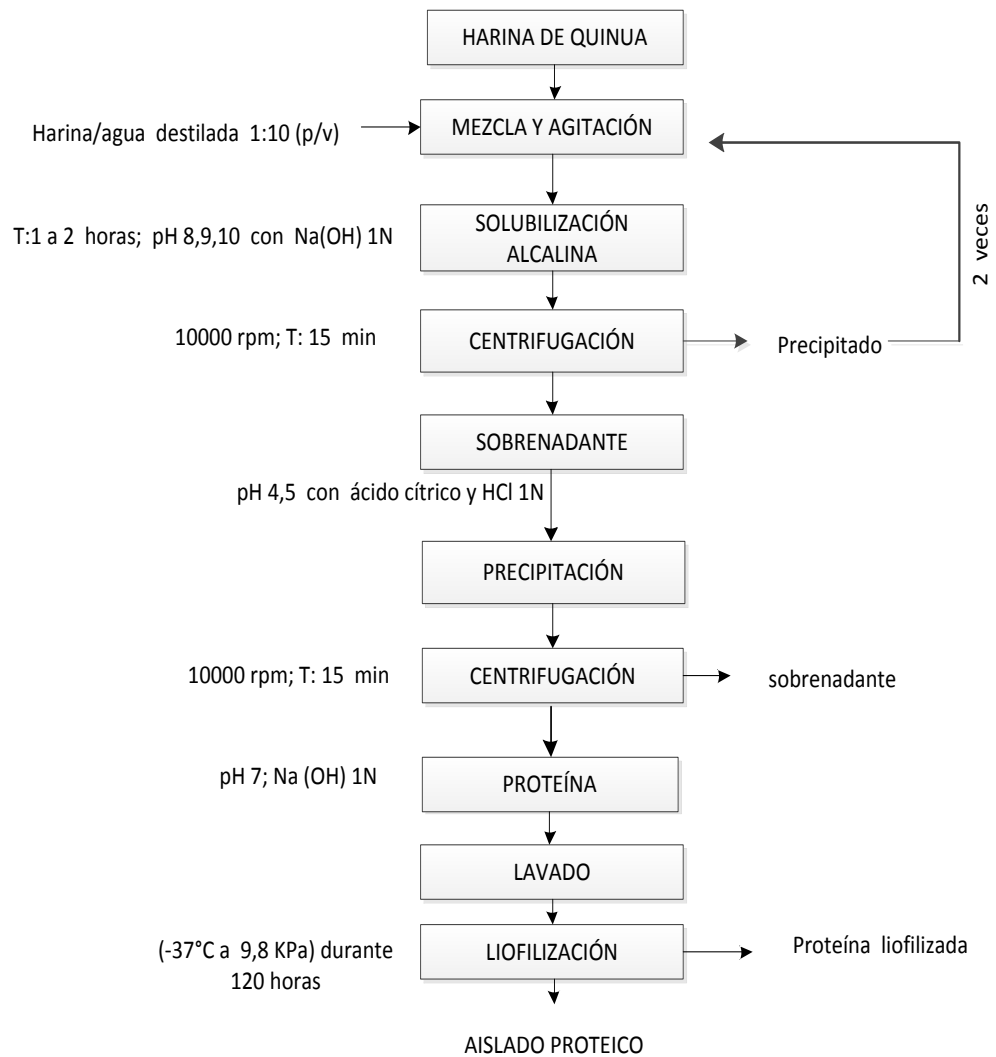
$$R = \frac{\text{Masa final}}{\text{Masa inicial}} \times 100$$

$$R = \frac{2591,7 \text{ g}}{3000 \text{ g}} \times 100$$

$$R = 86,39\%$$

$$\text{PERDIDAS} = 13,61\%$$

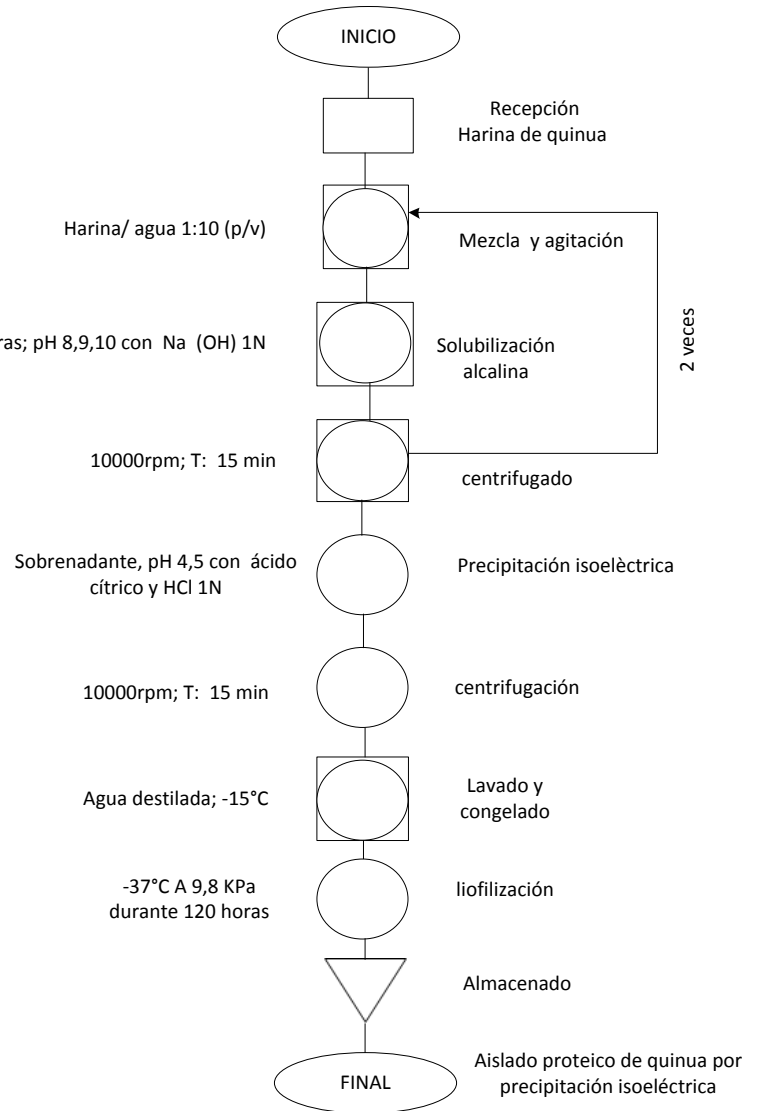
3.4.2 DIAGRAMA DE BLOQUES PARA LA OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd* POR PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA.



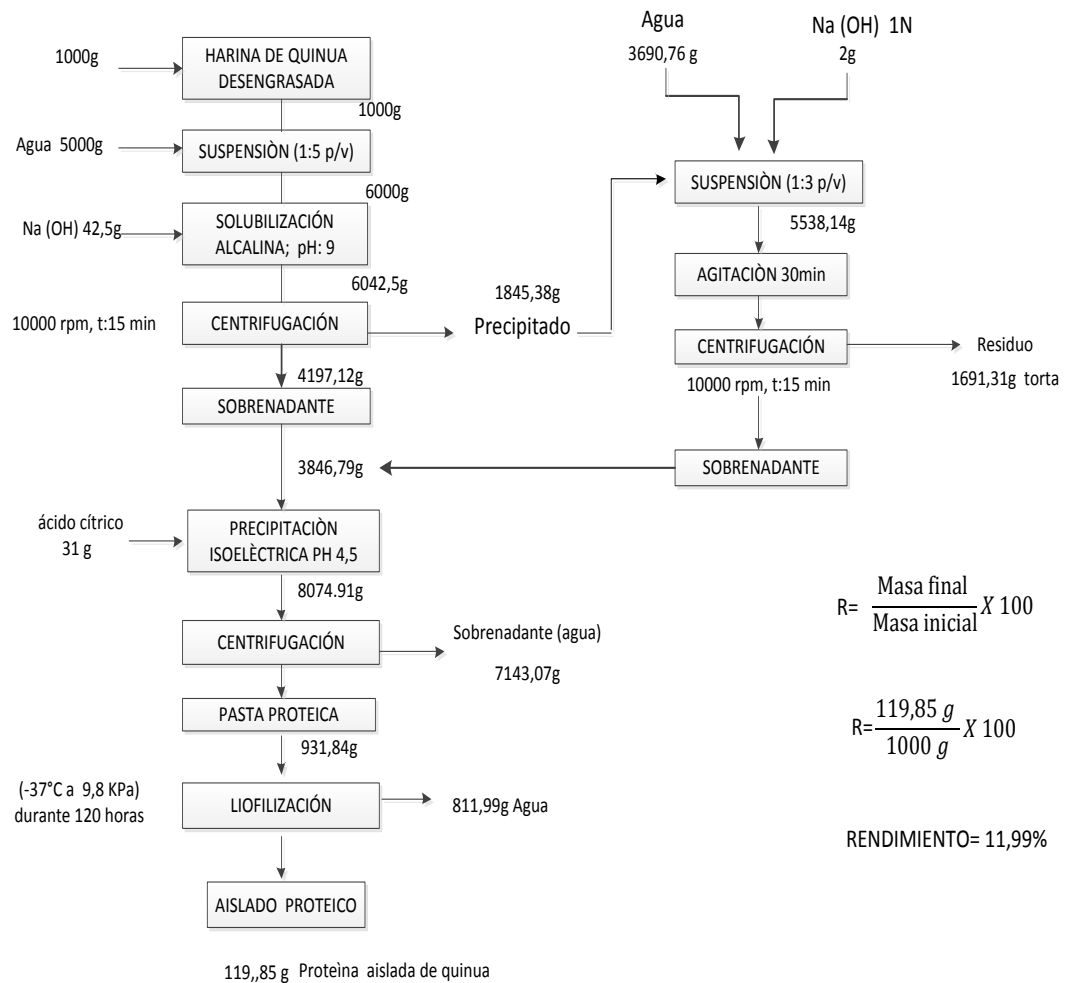
3.4.2.1 Diagrama de flujo para la obtención de un aislado proteico de quinua

Chenopodium quínoa willd por precipitación isoeléctrica.

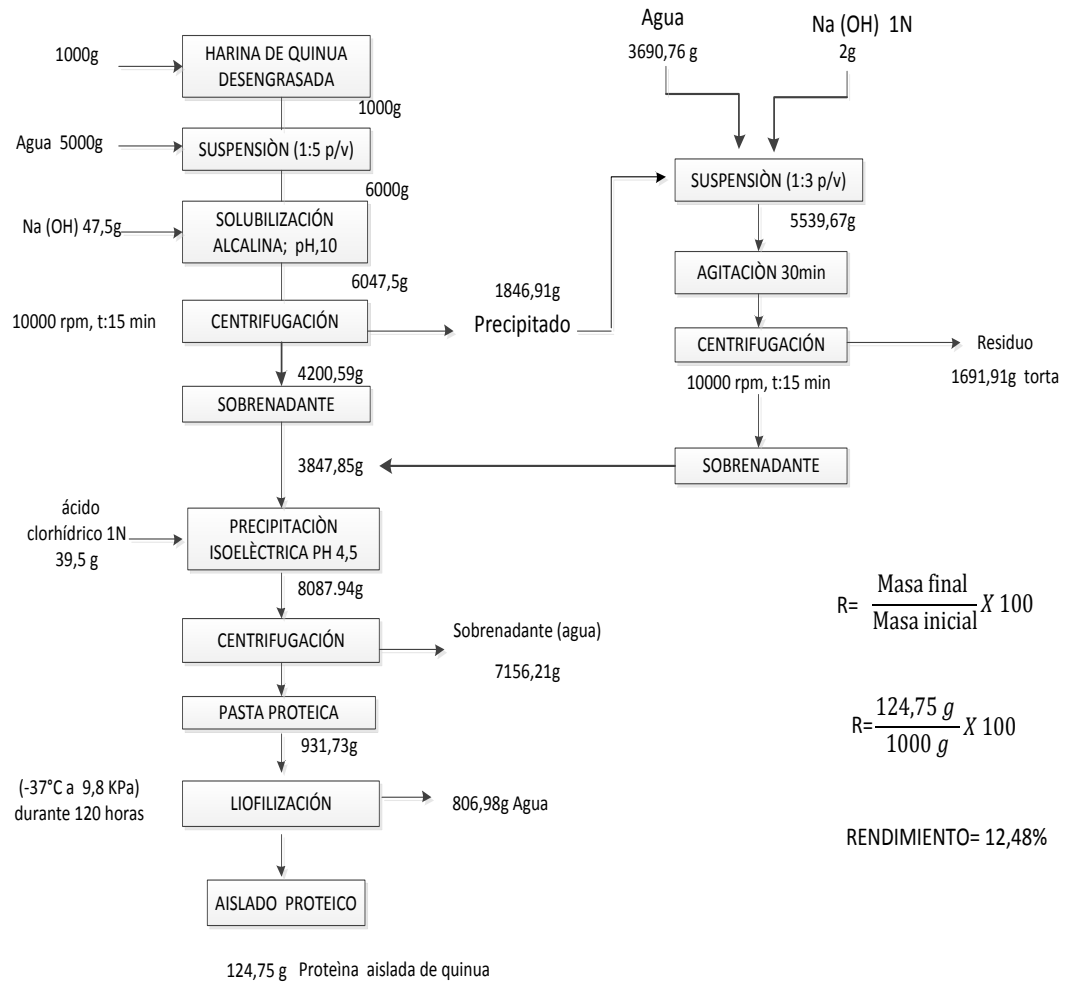
ACTIVIDAD	SIIMBOLO
RECEPCIÓN	
OPERACIÓN	
ALMACENAMIENTO	
INICIO O FINALIZACIÓN	
OPERACIÓN COMBINADA	



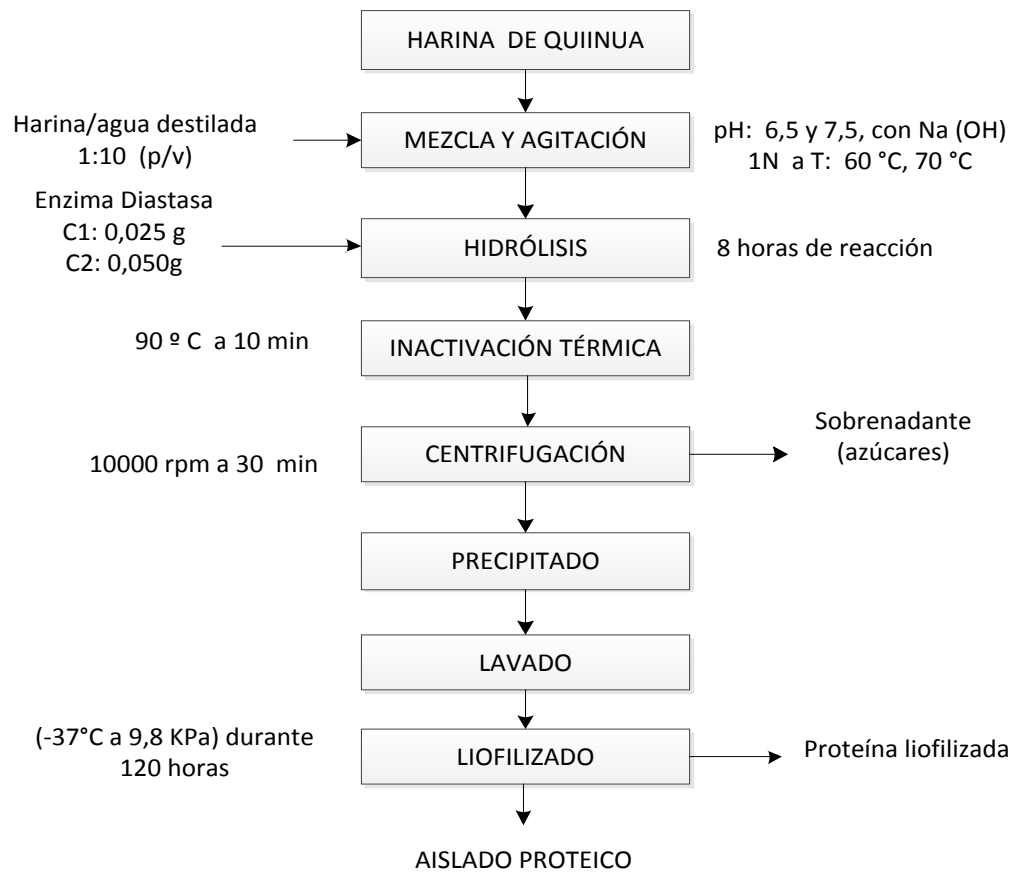
3.4.2.2 Balance de materiales para la obtención de un aislado proteico de quinua *Chenopodium quinoa willd* por precipitación isoelectrica con ácido cítrico



3.4.2.3 Balance de materiales para la obtención de un aislado proteico de quinoa *Chenopodium quinoa willd* por precipitación isoelectrica con ácido clorhídrico.








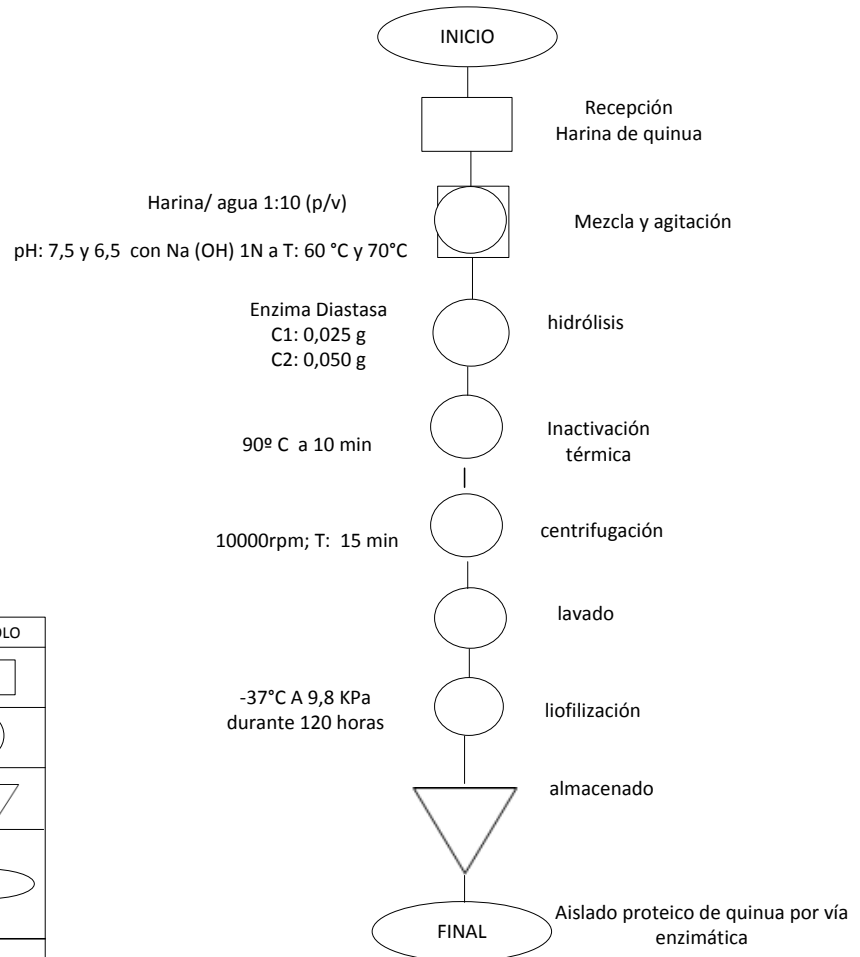
3.4.3 DIAGRAMA DE BLOQUES PARA LA OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd* MÉTODO ENZIMÁTICO.



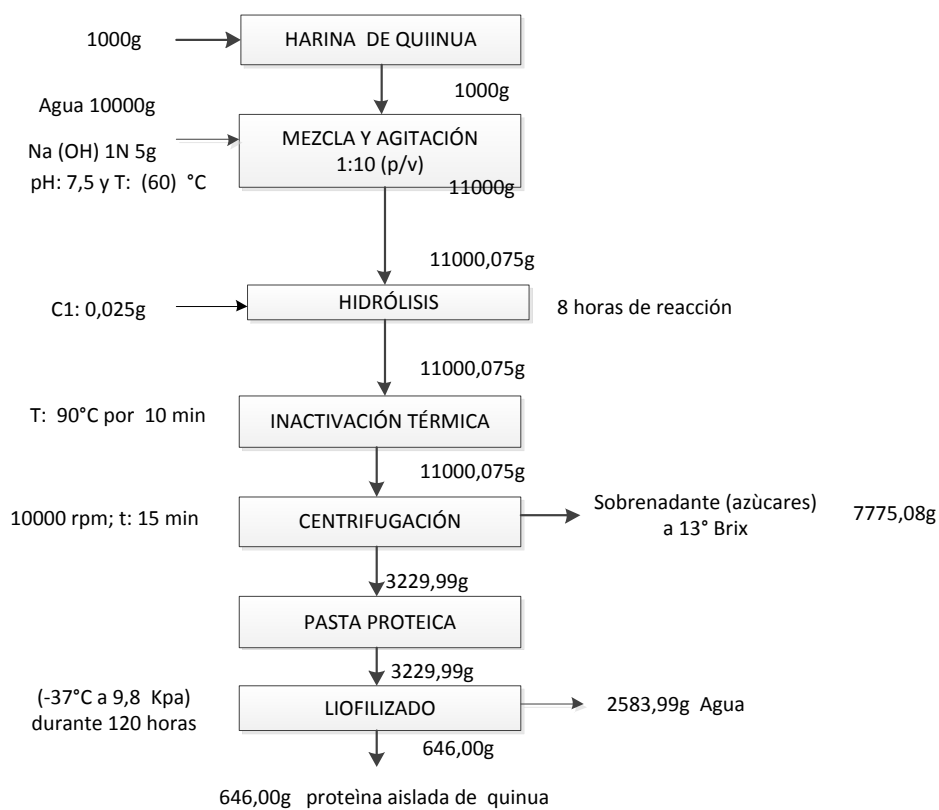
3.4.3.1 Diagrama de flujo para la obtención de un aislado proteico de quinua

Chenopodium quinoa willd método enzimático.

ACTIVIDAD	SIIMBOLO
INSPECCIÓN	
OPERACIÓN	
ALMACENAMIENTO	
INICIO O FINALIZACIÓN	
OPERACIÓN COMBINADA	



3.4.3.2 Balance de materiales para la obtención de un aislado proteico de quinua *Chenopodium quinoa willd* método enzimático.

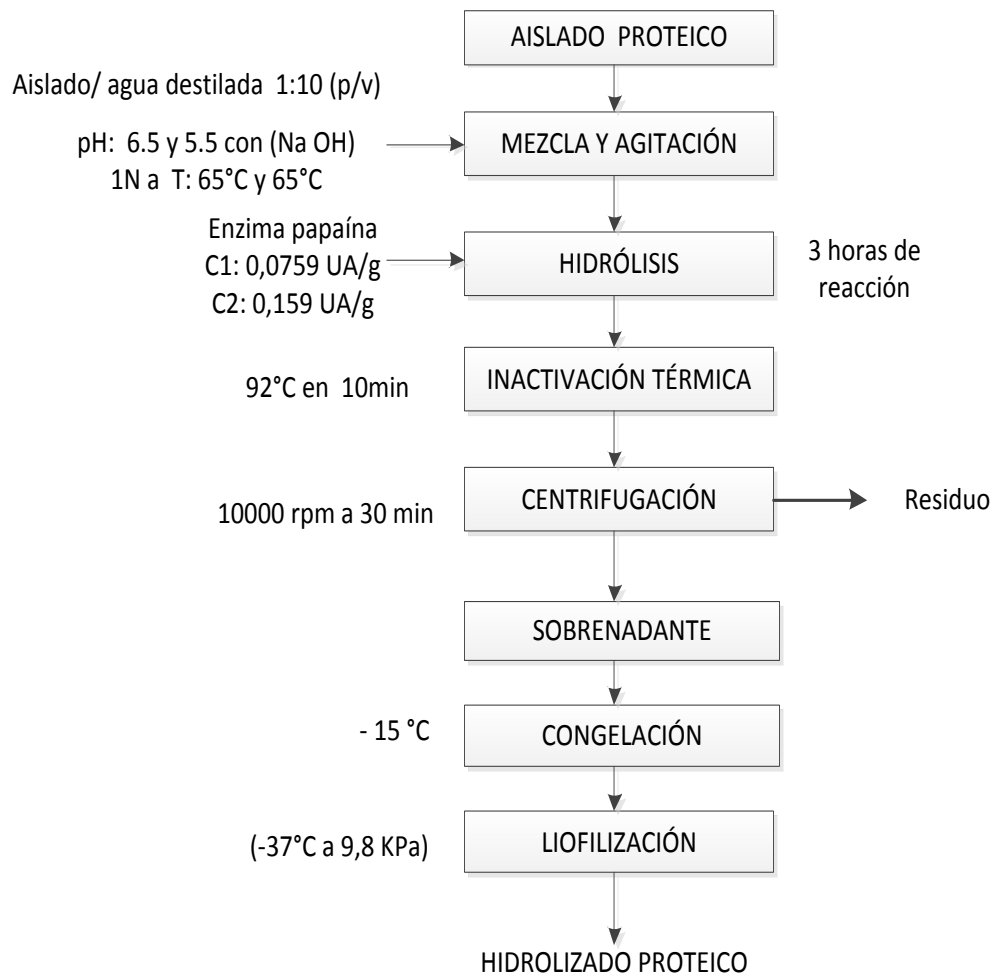


$$R = \frac{\text{Masa final}}{\text{Masa inicial}} \times 100$$

$$R = \frac{646,00 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100$$

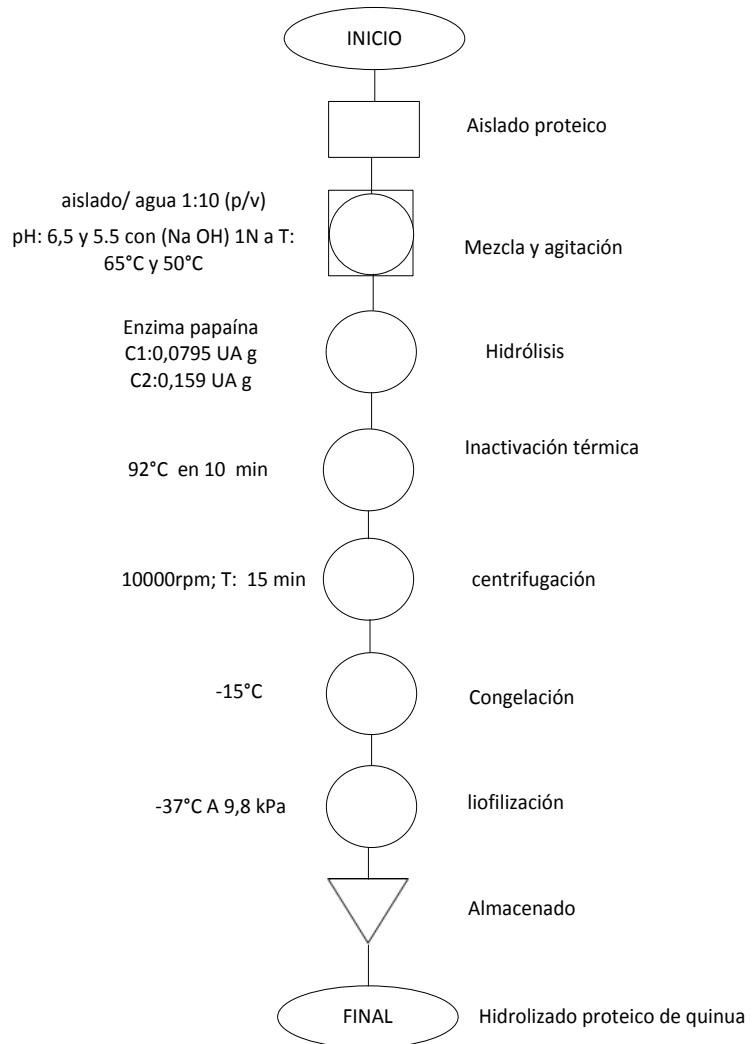
RENDIMIENTO= 64,6%

3.4.4 DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd.*

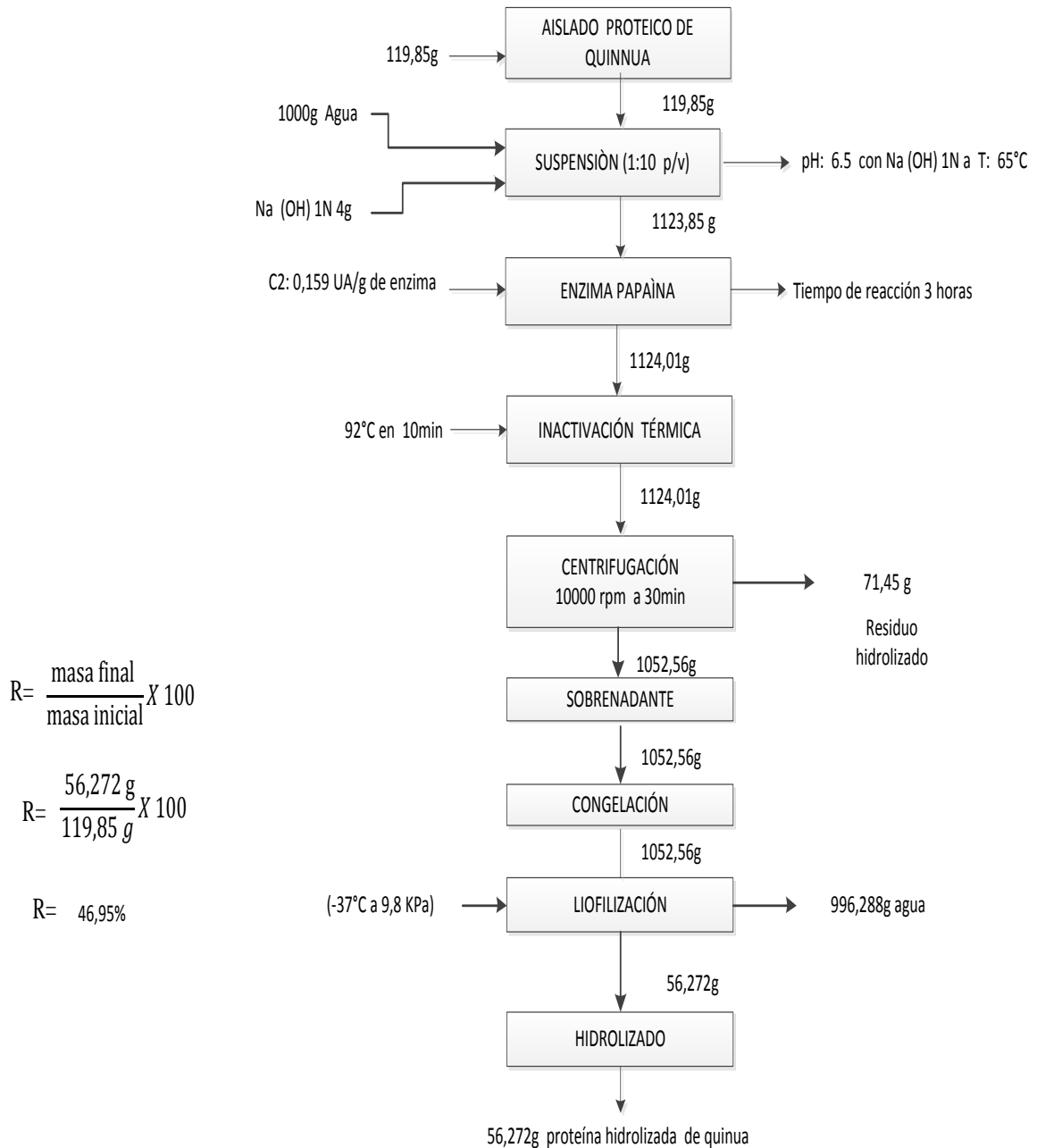


3.4.4.1 Diagrama de flujo para la obtención de proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa willd.*

ACTIVIDAD	SIIMBOLO
INSPECCIÓN	
OPERACIÓN	
ALMACENAMIENTO	
INICIO O FINALIZACIÓN	
OPERACIÓN COMBINADA	



3.4.4.2 Balance de materiales para la obtención de proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa willd.*



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados y discusiones en esta investigación se basan en los objetivos planteados y variables evaluadas, que a continuación se detallan.

4.1 EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO A PARTIR DE LA QUINUA.

Para la obtención de un aislado proteico, se aplicó los métodos enzimático y precipitación isoeléctrica, que a continuación se detalla los resultados alcanzados.

4.1.1 MÉTODO TRADICIONAL, PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA

Este método comprende dos fases, como son: la solubilidad alcalina y la precipitación isoeléctrica, que es el pH en donde la proteína presenta carga neta, igual número de cargas positivas que negativas, es decir carga eléctrica de cero, en donde la proteína precipita y es incapaz de desplazarse a otro campo eléctrico.

4.1.1.1 *Solubilización alcalina de la proteína con Na (OH) 1N, primera fase.*

La variable evaluada en la primera fase del diseño para la obtención del aislado proteico en la presente investigación, permitió establecer la cantidad de sólidos solubles disueltos en el agua tales como: azúcar, sales y ácidos de cadena corta presentes en el sobrenadante.

Variable contenido de sólidos solubles en el sobrenadante

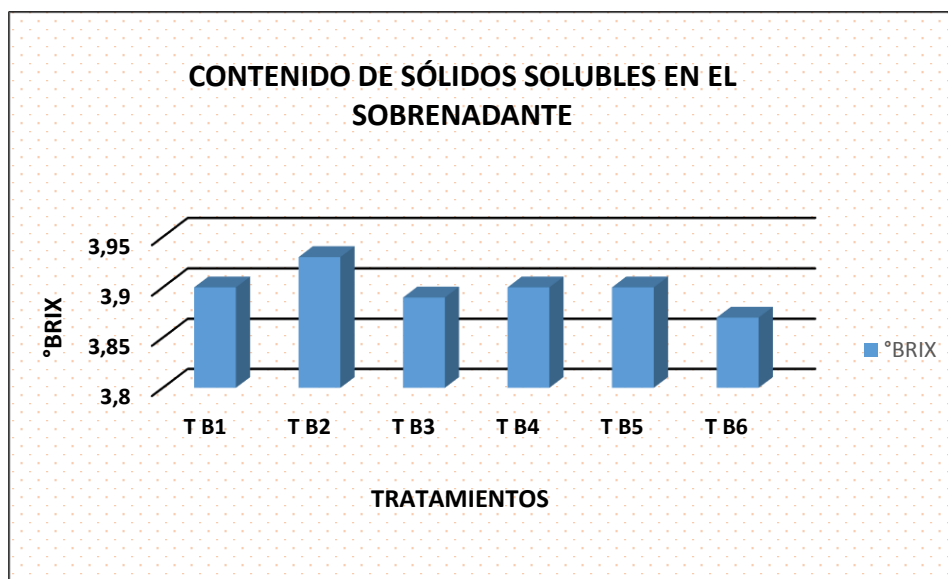


Gráfico 1.Contenido de sólidos solubles en el sobrenadante

En el grafico N°1, la solubilización alcalina de la proteína a pH 8, 9 y 10 con Na (OH) 1N a 1 y 2 horas de solubilidad, presentan contenidos de sólidos solubles parejos en todos los tratamientos. Estos parámetros son similares a los encontrados por investigaciones realizadas por Rivera (2006), que trabajo a pH 9 con Na (OH) 2N a 1 hora de solubilidad y Callisaya et al (2009) que solubiliza a la proteína con pH 8,0 y 8,9 con Na (OH) 1N a 1 hora. Es decir las proteínas extraídas a pH alcalinos tienen una predominancia de especies cargadas negativamente, debido a la ionización de los grupos carboxilo y desprotonación de los grupos amina. Este fenómeno se incrementa en las proteínas, alentando a su interacción con el disolvente aumentando de este modo la solubilidad de las proteínas, dejando las regiones hidrofóbicas en libertad de combinarse intermolecularmente Valenzuela, (2013). En cuanto a los parámetros evaluados en la solubilización alcalina fueron los más recomendados, ya que permiten obtener una cantidad apreciable de proteína, puesto que trabajar a tratamientos muy alcalinos a $\text{pH} > 9$ afectan negativamente a los aminoácidos, que causan cierto grado de desnaturalización.

Análisis de varianza del contenido de sólidos solubles en el sobrenadante.

F.V.	SC	GI	CM	F C	5%	1%
TRATAMIENTOS	0,18	5	0,04	1,54 NS	3,00	4,82
FACTOR B	0,07	2	0,04	1,5 NS	3,49	5,95
FACTOR A	0,04	1	0,04	1,52 NS	3,89	6,63
FACTOR A*B	0,07	2	0,04	1,6 NS	3,89	5,95
ERROR	0,28	12	0,02			
TOTAL	0,46	17				

C.V = 3,98%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

*: SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza, del contenido de sólidos solubles presentes en el sobrenadante, reveló que no existe significación estadística para los tratamientos, factor A (tiempo de solubilidad), Factor B (pH), Interacción Ax B. Es decir, que el tiempo de solubilidad y los diferentes niveles de pH se comportan de igual manera, debido a que la solución en el ensayo tenía una misma temperatura.

4.1.1.2 *Precipitación isoeléctrica de la proteína a pH (4,5) segundo fase*

El punto isoeléctrico indica que la proteína no posee carga eléctrica y que es incapaz de desplazarse a un campo eléctrico, permitiendo la precipitación de las proteínas.

Las variables evaluadas en esta fase para la obtención del aislado proteico, permitió establecer la cantidad de proteína extraída por precipitación isoeléctrica y por consiguiente su rendimiento.

4.1.1.2.1 *Variable rendimiento del aislado proteico de quinua en 200g por precipitación isoeléctrica.*

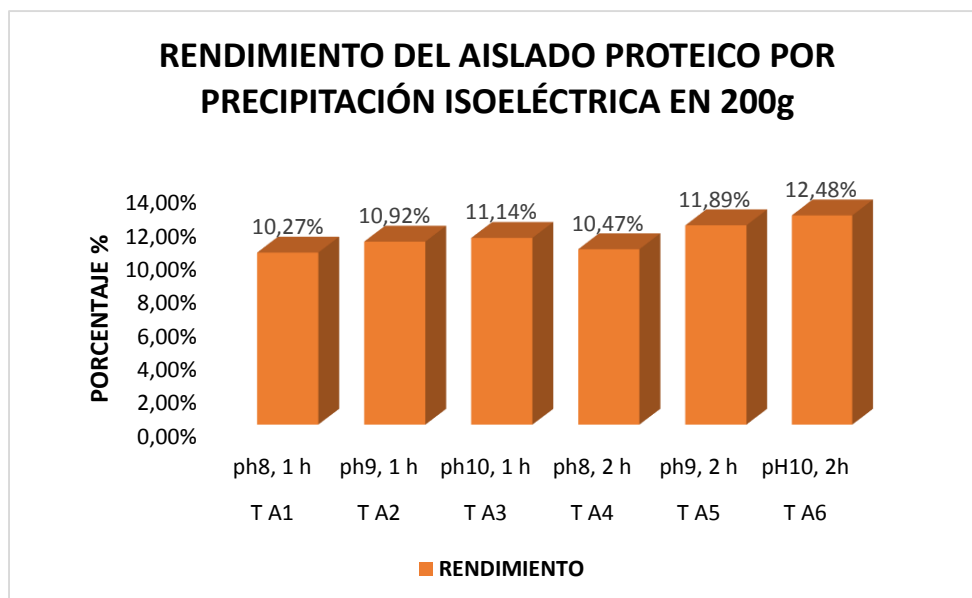


Gráfico 2. Rendimiento del aislado de quinua por precipitación isoeléctrica

En el gráfico N° 2, el aislado proteico por precipitación isoeléctrica, alcanzó mayor rendimiento en el T A6 a pH10 con 12,48% porcentaje superior, con respecto a la investigación realizada por Toapanta (2016), que obtuvo un rendimiento en aislado proteico de quinua con 6,29% a pH 8,0. Es decir, la extracción de la proteína se incrementa a medida que el pH aumenta; esto se debe a las fuerzas de atracción que presenta la proteína con el disolvente HCl un ácido fuerte y más ionizable capaz de recibir y donar electrones, logrando estructurar en mayor o menor grado a las moléculas de agua a su alrededor, causando su interacción directa con la proteína (Badui, 2013).

Sin embargo, el rendimiento del aislado de quinua es inferior, debido a que se trabajó con una relación 1:10 (p/v) de suspensión acuosa, en donde al aumentar la concentración del disolvente aumenta el coeficiente de transferencia de masa resultando una mayor extracción de proteína.

Análisis de varianza para el rendimiento del aislado por precipitación isoeléctrica.

F.V.	SC	GI	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	10,83	5	2,17	11,90**	4,82	3,00
FACTOR A	0,50	1	0,50	2,75**	6,93	3,89
FACTOR B	6,27	2	3,14	17,23**	5,95	3,49
FACTOR A* B	4,05	2	2,03	11,14**	6,93	3,89
ERROR	2,18	12	0,18			
TOTAL	13,01	17				

$$C.V = 3.81\%$$

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

* : SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza, del rendimiento de la proteína aislada por precipitación isoeléctrica, reveló que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (tipo de ácido), Factor B (número de lavados), Interacción AxB. Es decir, el tipo de ácido con diferentes niveles de pH, influyen en el rendimiento del aislado, debido a los cambios de ionización que presenta la proteína por efecto del pH.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el Factor A (tipo de ácido) y Factor B (pH).

Tabla 6. Prueba de Tukey al 5 % para el rendimiento del aislado, por precipitación isoeléctrica.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
T_{A6} (A2B3)	12,48	a	
T_{A5} (A2B2)	11,89	a	b
T_{A3} (A1B3)	11,14	b	c
T_{A2} (A1B2)	10,92	b	c
T_{A4} (A2B1)	10,47		c
T_{A1} (A1B1)	10,27		c

T_A: Tratamiento Ácido

En la prueba de Tukey al 5%, se pudo establecer que en el rango a, se encuentran el mejor tratamiento, el cual contiene mayor rendimiento en aislado por

precipitación isoelectrica cuyo valor es: 12,80% que corresponde al tratamiento T_{A6} (pH 10 con ácido clorhídrico, dos lavados) respectivamente.

Tabla 7. Prueba de Diferencia Mínima Significativa para factor A y factor B en el rendimiento del aislado, por precipitación isoelectrica.

FACTOR A	MEDIAS	RANGOS	FACTOR B	MEDIAS	RANGOS
A2	12,05	a	B3	11,70	a
A1	10,57	a	B2	11,67	a
			B1	10,37	b

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** tipo de ácido (12,05), **B** número de lavados (11,70), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Es decir los parámetros utilizados en el T_{A6} (ácido clorhídrico, dos lavados y pH 10) permiten obtener mayor rendimiento de aislado. Sin embargo, a pH muy alcalinos puede ocasionar una desnaturalización de la proteína.

Interacción (AxB), variable rendimiento del aislado, por precipitación isoelectrica.

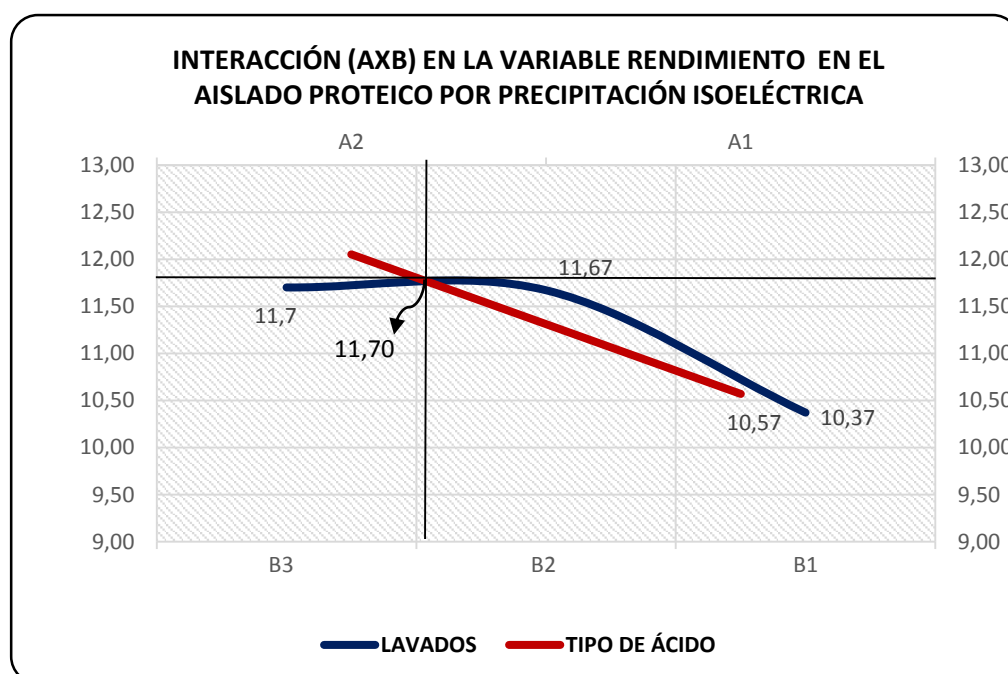


Gráfico 3. Interacción de los factores (AxB) en la variable rendimiento del aislado, por precipitación isoelectrica.

En el gráfico N° 3, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y B, del tipo de ácido con el número de lavados. Se visualiza el punto óptimo ubicado en el cuadrante A2B3 con 11,70 que indica el punto de equilibrio del tipo de ácido A2 (ácido clorhídrico 1N) y B3 (dos lavados) que permiten obtener mayor rendimiento de aislado, por precipitación isoeléctrica, libre de polisacáridos insolubles y fibra cruda.

4.1.1.2 Variable contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoeléctrica.

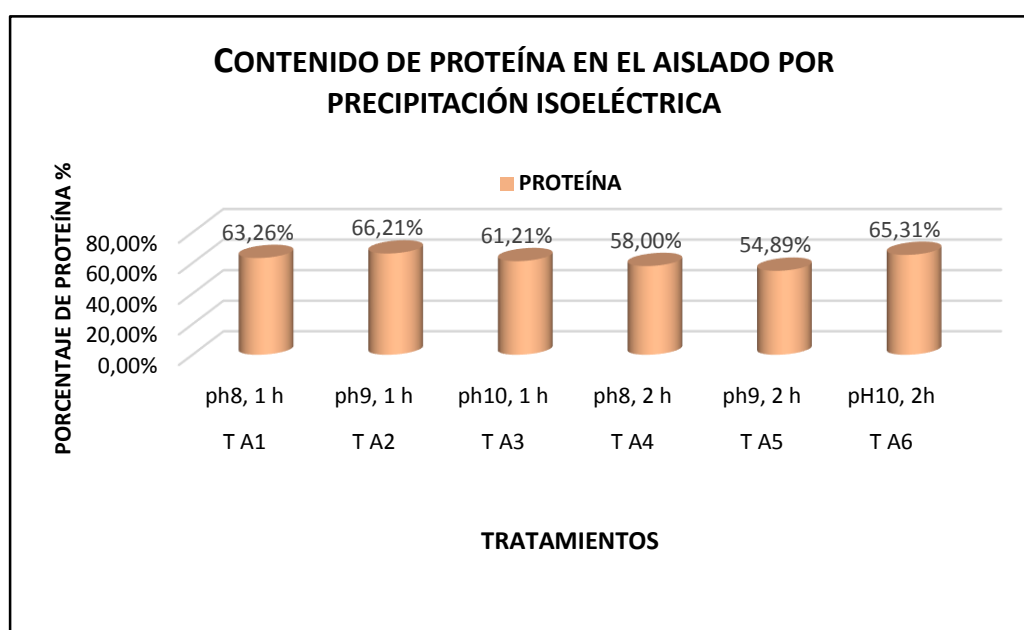


Gráfico 4. Contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoeléctrico.

En el gráfico N° 4, el aislado proteico por precipitación isoeléctrica, alcanzó un contenido de proteína de 66,21% en el T_{A2} a pH 9, porcentaje superior con respecto al aislado de quinua obtenido por Toapanta (2016) con 64,97% de proteína a pH 8,0. En cuanto a otras investigaciones, su contenido de proteína es inferior con respecto a Rivera (2006), que obtuvo un aislado de quinua con 77,20% de proteína a pH 9 y Silva (2006), que obtuvo un aislado de quinua con 83,50% de proteína a pH 11. Estos valores se deben a diferentes parámetros de extracción para la obtención de la proteína, como también la utilización de diferente variedad de quinua.

Así que, a medida que el pH va aumentando en la solución alcalina, el porcentaje de extracción va incrementado, pero a condiciones muy alcalinas puede ocasionar una desnaturalización de la proteína y pérdida de ciertos aminoácidos tales como triptófano, lisina, cistina etc.

Análisis de varianza en el contenido de proteína del aislado por precipitación isoelectrica.

F.V.	SC	Gl	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	323,44	5	64,69	7,5**	3	4,82
FACTOR A	88,98	1	88,98	10,31**	3,89	6,93
FACTOR B	34,2	2	17,1	1,98NS	3,49	5,95
FACTOR AXB	200,27	2	100,13	11,6**	3,89	5,95
ERROR	103,56	12	8,63			
TOTAL	427	17				

C.V. = 4,79%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

*: SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza para el contenido de proteína en el aislado por precipitación isoelectrica, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (tipo de ácido), Interacción AxB y no significativo para Factor B (número de lavados). Es decir que para la extracción de la proteína el número de lavados no influye en su composición; por lo que el tipo de ácido con diferentes niveles de pH influyen en la extracción de la proteína y por consiguiente en su rendimiento.

Se realizó pruebas de significación, Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el Factor A (tipo de ácido) y Factor B (pH).

Tabla 8. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.

TRATAMIENTOS	Medias	RANGO
T_{A2} (A1B2)	66,21	a
T_{A6} (A2B3)	65,31	a b
T_{A1} (A1B1)	63,26	a b
T_{A3} (A1B3)	61,21	a b c
T_{A4} (A2B1)	58,00	b c
T_{A5} (A2B2)	54,03	c

T_A: Tratamiento Ácido

Al realizar la prueba de Tukey al 5%, se pudo establecer que en el rango a, se encuentra el mejor tratamiento, el cual contienen mayor cantidad de proteína extraída por precipitación isoelectrica; cuyo valor es: 66,21% que corresponde a al tratamiento T_{A2} (pH 9 con ácido cítrico, un lavado y rendimiento 11,89%) respectivamente.

Tabla 9. Prueba de Diferencia Minina Significativa para Factor A Y Factor B en el contenido de proteína aislada por precipitación isoelectrica.

FACTOR A	MEDIAS	RANGOS	FACTOR B	MEDIAS	RANGOS
A1	63,56	a	B3	66,29	a
A2	60,68	b	B1	61,63	a
			B2	59,12	a

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa, para los factores **A** tipo de ácido (63,56), **B** número de lavados (66,29), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Por lo tanto los parámetros utilizados en el T_{A2} (ácido cítrico, dos lavados y pH 9) son los apropiados para extraer mayor contenido de proteína aislada por precipitación isoelectrica.

Interacción (AxB) en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.

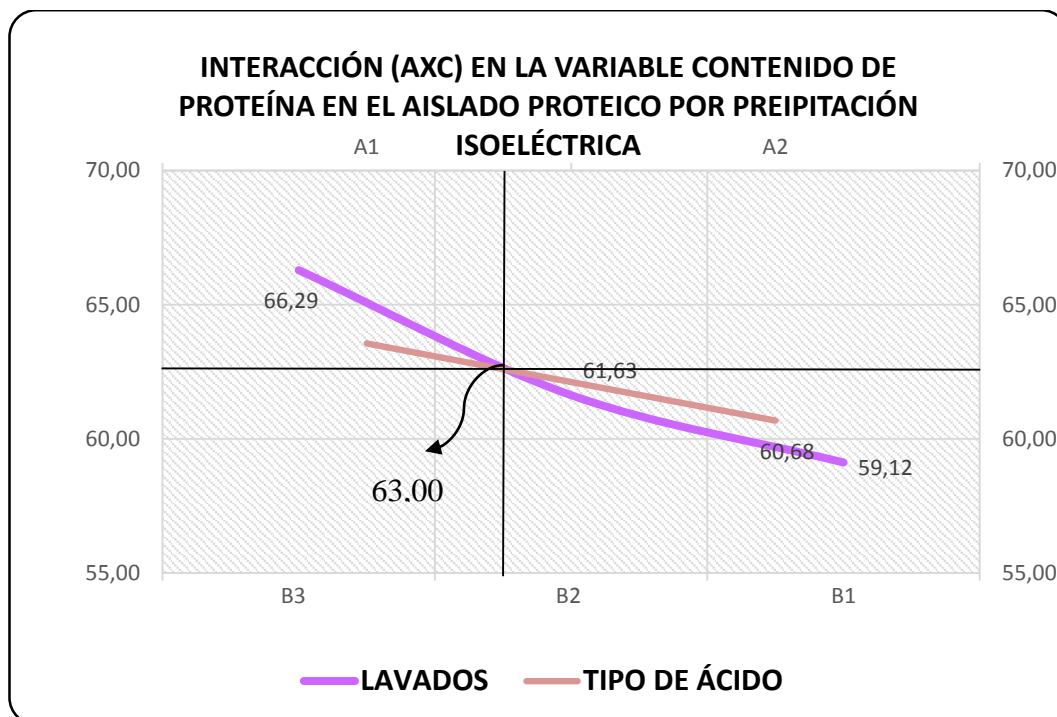


Gráfico 5. Contenido de proteína en el aislado por precipitación isoelectrica.

En el grafico N° 5, se observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y B, del tipo de ácido con el número de lavados. Se visualiza el punto óptimo ubicado en el cuadrante A1B2 con 63,00 que indica el punto de equilibrio del tipo de ácido A1 (ácido cítrico) y B2 (un lavado) parámetros adecuados para obtener mayor contenido de proteína presente en los aislados y con los lavados obtener proteína libre sustancias ácidas.

4.1.2 MÉTODO ENZIMÁTICO PARA LA OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO DE QUINUA.

Para la obtención de un aislado proteico de quinua por vía enzimática, se empleó la enzima Diastasa con propiedades de alfa-amilasa y beta-amilasa que hidrolizan los enlaces α 1-4 y α 1-6 en conjunto descomponiendo las cadenas largas y ramificadas del almidón en azúcares (Casallas, Gonzales, Rodriguez, & Suta, 2015).

4.1.2.1 Variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de quinua.

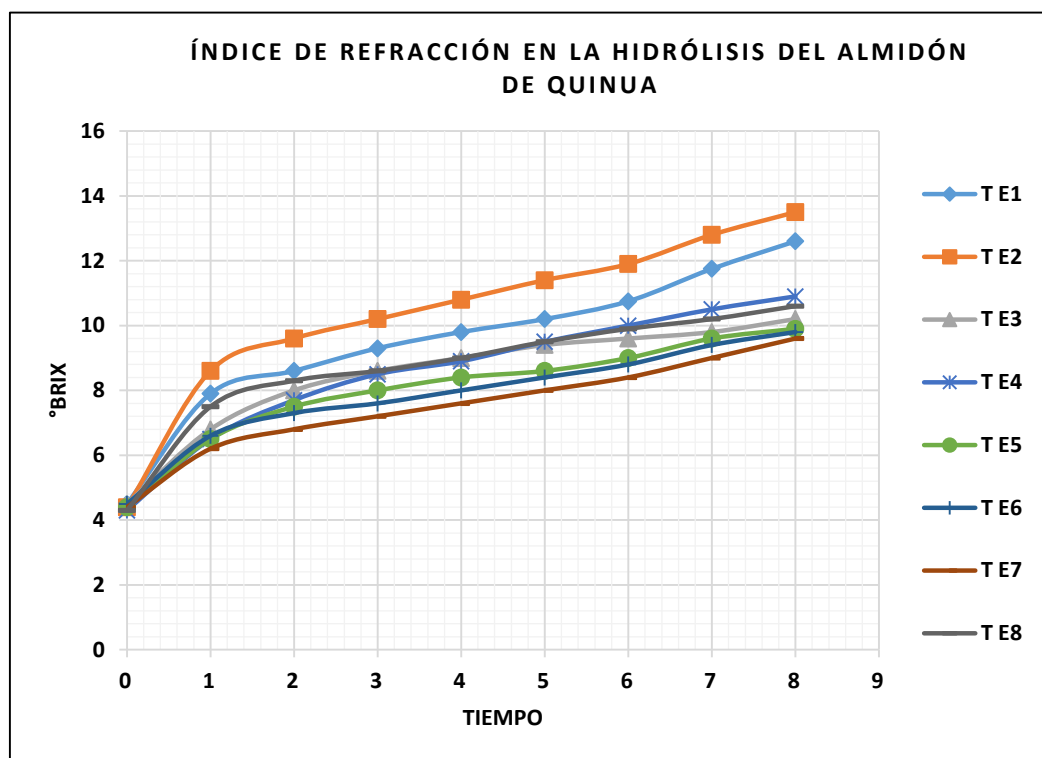


Gráfico 6 Hidrólisis del almidón de quinua

En el gráfico N° 6, la hidrólisis del almidón de quinua, obtuvo mayor cantidad de azúcares liberados por medio de la degradación del almidón en el tratamiento TE2 (0,025g a 60°C y pH 7,5) representando 13,10° Brix, el dato obtenido en esta investigación es inferior en comparación a Chiluisa (2015) que hidroliza el almidón de plátano y obtiene 14°Brix en la etapa de sacarificación a concentraciones de 0,06g/L de amilogucosidasa. No obstante la enzima utilizada Diastasa trabajo 60°C en la etapa de gelificación y licuefacción del almidón atacando a los enlaces glucosídicos α (1-4) de la amilosa y α (1-6) de la amilopectina, ya que opera en las moléculas terminales de las cadenas, produciendo cada vez más moléculas de glucosa (Gálvez, Flores, & González, 2013).

Análisis de varianza para el índice de refracción en la hidrólisis del almidón de quinua.

F.V.	SC	Gl	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	25,96	7	3,71	30,96**	2,59	3,89
FACTOR A	15,94	1	15,94	133,05**	3,63	6,23
FACTOR B	4,03	1	4,03	33,67**	3,63	6,23
FACTOR C	0,71	1	0,71	5,90*	3,63	6,23
FACTOR AXB	3,41	1	3,41	28,42**	4,49	8,53
FACTOR AXC	0,26	1	0,26	2,21NS	4,49	8,53
FACTOR BXC	1,16	1	1,16	9,70**	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	0,45	1	0,45	3,74NS	4,49	8,53
ERROR	1,92	16	0,12			
TOTAL	27,88	23				

C.V = 3,19%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

* : SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza, para el índice de refracción en la hidrólisis del almidón por vía enzimática, reveló que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), factor C (pH), Interacción AxB, interacción AxC e interacción BxC. Es decir, la hidrólisis del almidón con la enzima aplicada a diferentes temperaturas y pH, influyen en la degradación del almidón a moléculas de glucosa.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el Factor A (concentración de enzima), Factor B (temperatura) y Factor C (pH).

Tabla 10. Prueba de Tukey al 5 % para el índice de refracción en la hidrólisis del almidón por vía enzimática

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
T_E2 (A1B1C2)	13,10	a	
T_E1 (A1B1C1)	11,83	b	
T_E3 (A1B2C1)	10,97	b	c
T_E4 (A1B2C2)	10,81	c	d
T_E6 (A2B1C2)	10,23	c	d
T_E7 (A2B2C1)	10,03	c	d
T_E8 (A2B2C2)	10,00	c	d
T_E5 (A2B1C1)	9,93	d	

T_E: Tratamiento enzimático

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que en el rango a, se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene mayor cantidad de azúcares disueltos en el sobrenadante por medio de la hidrólisis del almidón por vía enzimática; cuyo valor es: 13,10 °Brix para el rango “a” que corresponden al tratamiento T2 (0,025ga 60°C y pH 7,5) respectivamente.

Tabla 11. Prueba de Diferencia mínima significativa para factor A; factor B; factor C en el índice de refracción para la hidrólisis del almidón por vía enzimática.

FACTOR A	MEDIAS	RANGOS
A1	11,88	a
A2	10,05	b

FACTOR B	Medias	RANGOS
B1	11,48	a
B2	10,46	b

FACTOR C	Medias	RANGOS
C2	11,25	a
C1	11,02	b

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** concentración de enzima (11,88), **B** temperatura (11,48) y **C** pH (11,25), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Por lo tanto, los parámetros utilizados en el T2 (0,025g a 60°C y pH 9) son apropiados para que la enzima Diastasa hidrolice el almidón de quinua liberando mayor cantidad de azúcares.

Interacción AxB en la variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de quinua por vía enzimática.

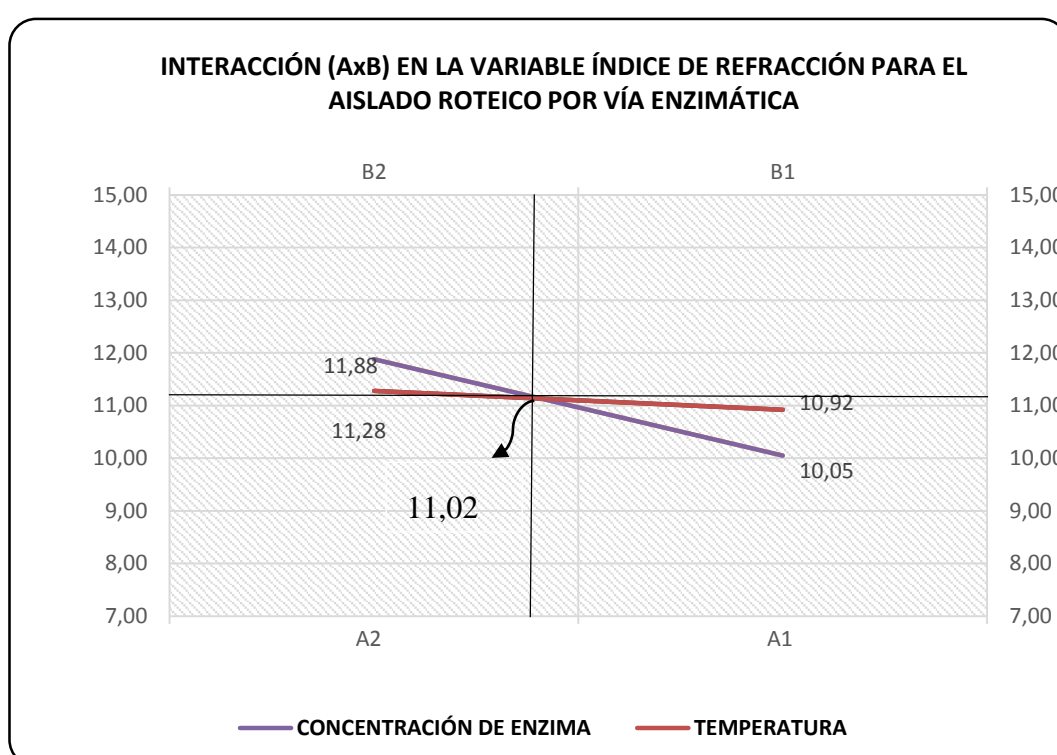


Gráfico 7. Interacción en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón

En el gráfico N° 7, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y B, la concentración de enzima a diferentes temperaturas. Se visualiza el punto óptimo ubicado en el cuadrante A1B1 con 11,02 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima A1 (0,025g) a temperatura 60°C; parámetros apropiados para que la enzima Diastasa, sea estable, funcione de manera eficiente sobre las cadenas del almidón liberando mayor cantidad de azúcares.

Interacción AxC en la variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de quinua por vía enzimática

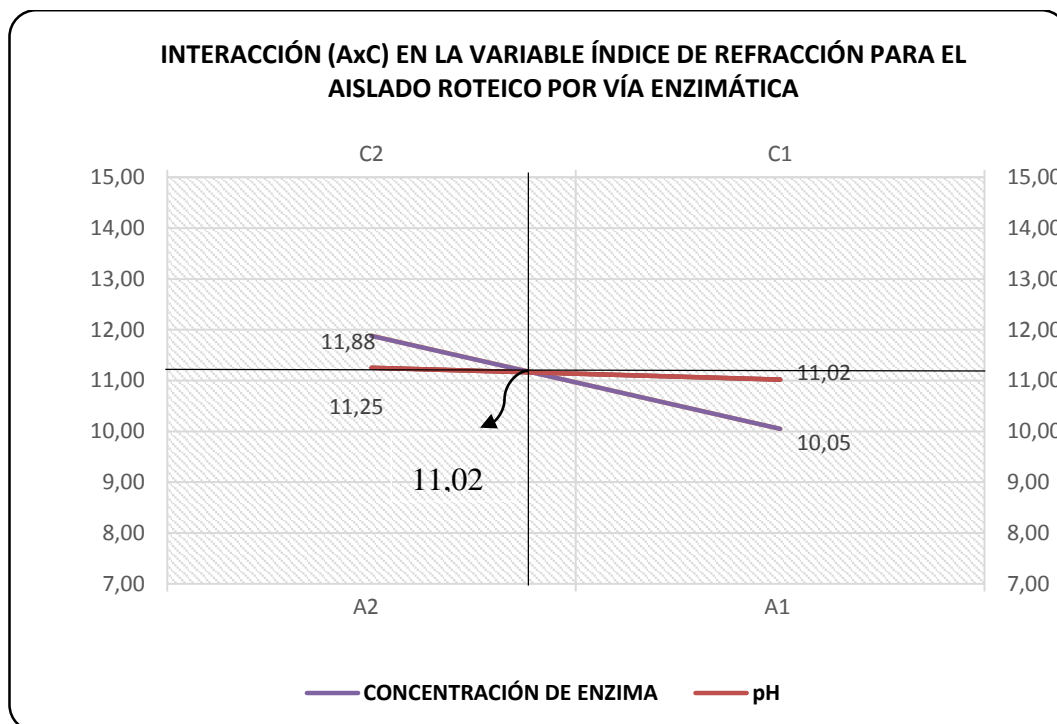


Gráfico 8. Interacción AxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón

En el gráfico N° 8, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y C la concentración de enzima a diferentes pH. Se visualiza el punto óptimo ubicado en el cuadrante A1C2 con 11,02 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima A1 (0,025g) con C2 (7,5 pH), parámetros apropiados para que la enzima, se estable, realice su actividad catalítica sobre el almidón, liberando mayor cantidad de azúcares.

Interacción BxC en la variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de quinua por vía enzimática.

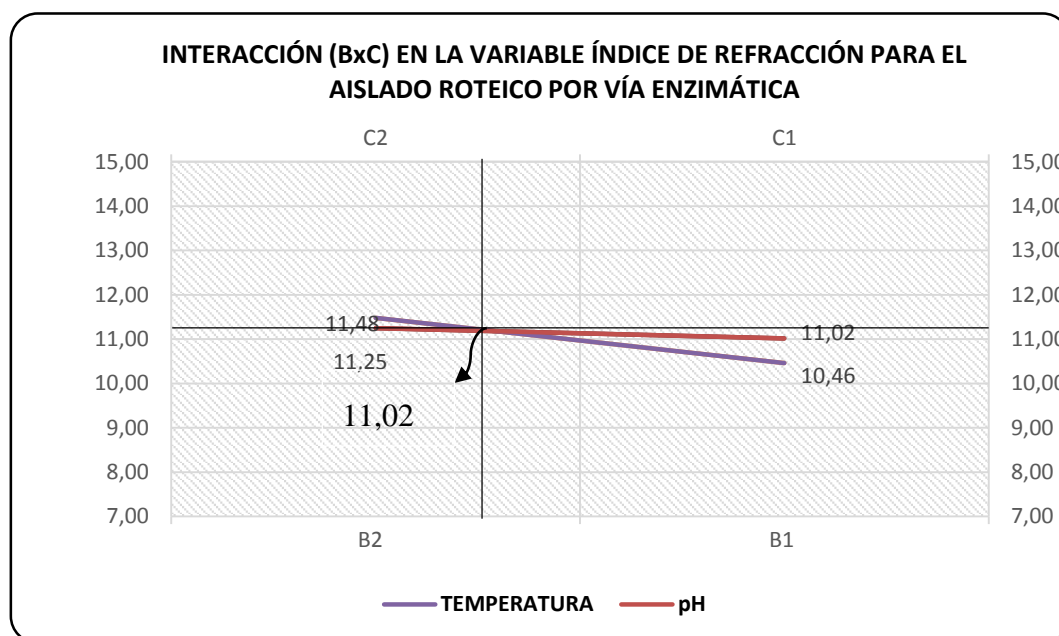


Gráfico 9. Interacción BxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del almidón

En el gráfico N° 9, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores B y C, la temperatura con diferentes pH. Se visualiza el punto óptimo ubicado en cuadrante B1C2 con 11,02 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima A1 (0,025g) con C2 (7,5 pH), son parámetros apropiados para que la enzima sea estable, realice su actividad catalítica y trabaje de manera eficiente sobre el almidón, liberando mayor cantidad de azúcares.

4.1.2.2 Variable contenido de almidón presente en el aislado por vía enzimática.

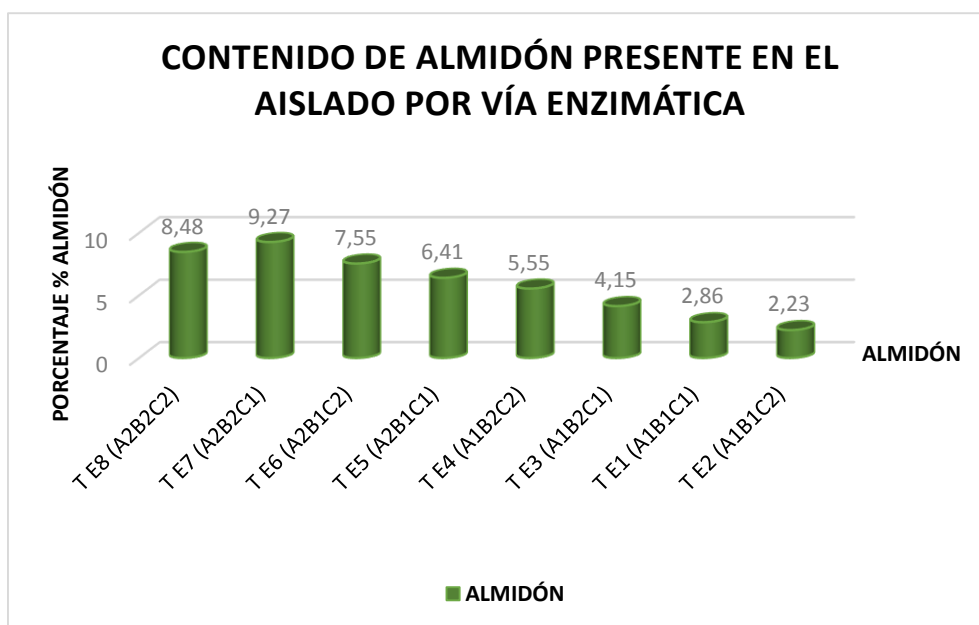


Gráfico 10. Contenido de almidón en el aislado por vía enzimática

En el gráfico N° 10, el aislado proteico por vía enzimática, presentó menor contenido de almidón presente en el aislado proteico de 2,23% en el tratamiento TE2 (0,025g a 60°C y pH 7,5). Este dato, es superior con respecto a la investigación realiza por Chiluisa (2015), que obtuvo valores mínimos de contenido de almidón en el plátano a 0,18% con concentraciones de 0,6g/L de alfa-amilasa y 0,06g/L de amiloglucosidasa. Es decir la enzima Diastasa en las etapas de licuefacción y sacarificación, ataca a enlaces glucosídicos α (1-4) de la amilosa y α (1-6) de la amilopectina. No obstante, no logra una mayor ruptura de la estructura cristalina del almidón, debido a que no logra hidrolizar por completo sus ramificaciones en los enlaces α (1-6) formados por dobles hélices seis o siete unidades glucosidicas por cada vuelta (Fennema, 2010). Obteniendo como resultado un aislado de baja calidad proteica.

Análisis de varianza para el contenido de almidón en el aislado por vía enzimática.

F.V.	SC	Gl	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	140,5	7	20,07	146,48**	2,59	3,89
FACTOR A	107,32	1	107,32	783,2**	3,63	6,23
FACTOR B	26,48	1	26,48	193,26**	3,63	6,23
FACTOR C	2,77	1	2,77	20,2**	3,63	6,23
FACTOR AXB	0,25	1	0,25	1,86NS	4,49	8,53
FACTOR AXC	0,5	1	0,5	3,66NS	4,49	8,53
FACTOR BXC	1,05	1	1,05	7,63*	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	2,13	1	2,13	15,55**	4,49	8,53
ERROR	2,19	16	0,14			
TOTAL	142,69	23				

C.V = 4,80%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

* : SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza, para el contenido de almidón presente en el aislado proteico por vía enzimática, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), Factor C (pH), Interacción AxB, Interacción AxC, Interacción BxC y en la Interacción AxBxC; es decir el contenido de almidón presente en el aislado influye en la extracción y en calidad de la proteína aislada.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura) y factor C (pH).

Tabla 12. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGOS
T_E2 (A1B1C2)	2,23	a
T_E1 (A1B1C1)	2,86	a
T_E3 (A1B2C1)	4,15	b
T_E4 (A1B2C2)	5,55	c
T_E5 (A2B1C1)	6,41	c
T_E6 (A2B1C2)	7,55	d
T_E7 (A2B2C1)	9,27	d e
T_E8 (A2B2C2)	8,48	e

T_E: Tratamiento enzimático

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que en el rango a se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene menor cantidad de almidón presente en el aislado, cuyo valor es: 2,23% que corresponden al tratamiento T_E2 (0,025g a 60°C y 7,5pH) respectivamente.

Tabla 13. Prueba de diferencia mínima significativa para factor A, factor B y factor C en el contenido de almidón presente en el aislado proteico por vía enzimática.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO	FACTOR B	MEDIAS	RANGO
A1	3,7	a	B1	4,76	a
A2	8,93	b	B2	7,92	b

FACTOR C	MEDIAS	RANGO
C2	5,47	a
C1	6,15	b

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** concentración de enzima (3,7), **B** temperatura (4,76) y **C** pH (5,47), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Es decir, los parámetros utilizados en el TE2 (0,025g a 60°C y pH 9), son apropiados para que la enzima Diastasa realice su actividad catalítica sobre el almidón liberando mayor cantidad de azúcares y permitir obtener un menor contenido de almidón presente en el aislado proteico.

Interacción (AxB) en la variable contenido de almidón presente en el aislado por vía enzimática.

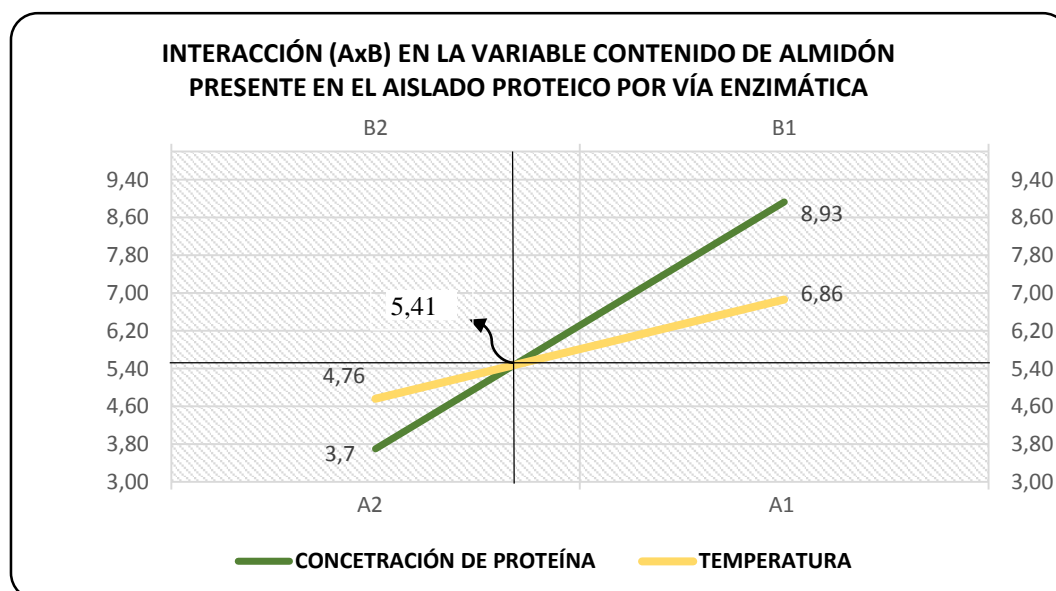


Gráfico 11. Interacción AxB en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N° 11, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y B, la concentración de enzima con diferentes temperaturas. Se visualiza el punto óptimo ubicado en el cuadrante A1B1 con 5,41 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima A1 (0,025g) a temperatura de 60°C; parámetros apropiados para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, la temperatura factor indispensable para que sea estable,

realice su actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares y menor contenido de almidón presente en el aislado.

Interacción AxC en la variable contenido de almidón presente en el aislado por vía enzimática.

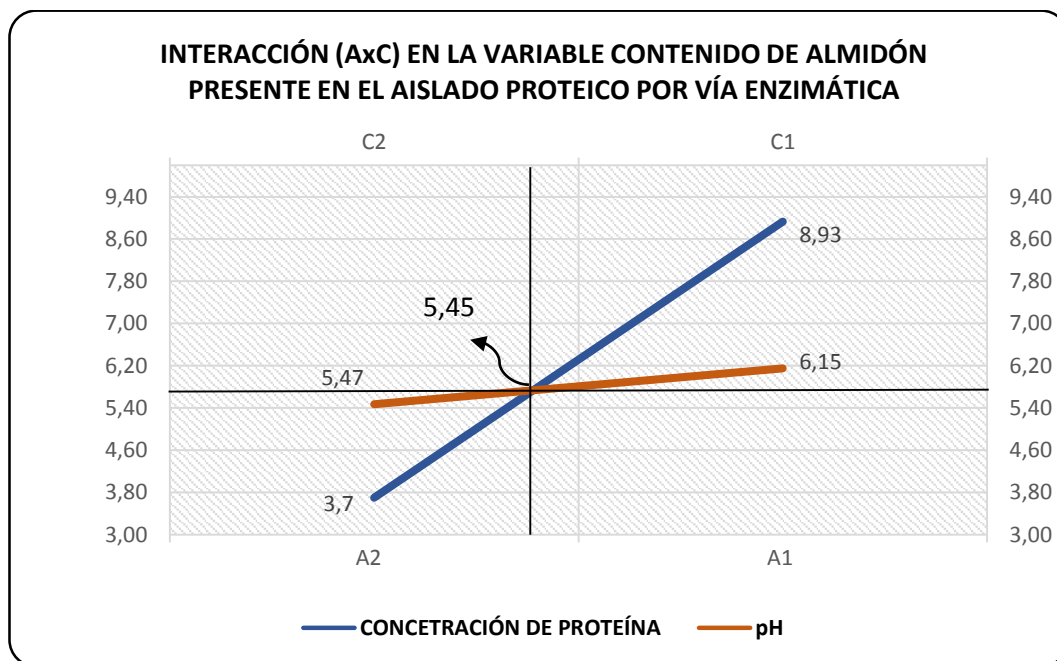


Gráfico 12. Interacción AxC en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N° 12, podemos observar el comportamiento de las medias de los respectivos factores A y C, la concentración de enzima y a diferentes pH. Se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A1C2 con 5,45 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima A1 (0,025g) y C2 (pH 7,5); son parámetros apropiados para que la enzima Diastasa trabaje a trabajo de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable, realice su actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares y menor contenido de almidón presente en el aislado.

Interacción (BxC) en la variable contenido de almidón presente en el aislado por vía enzimática.

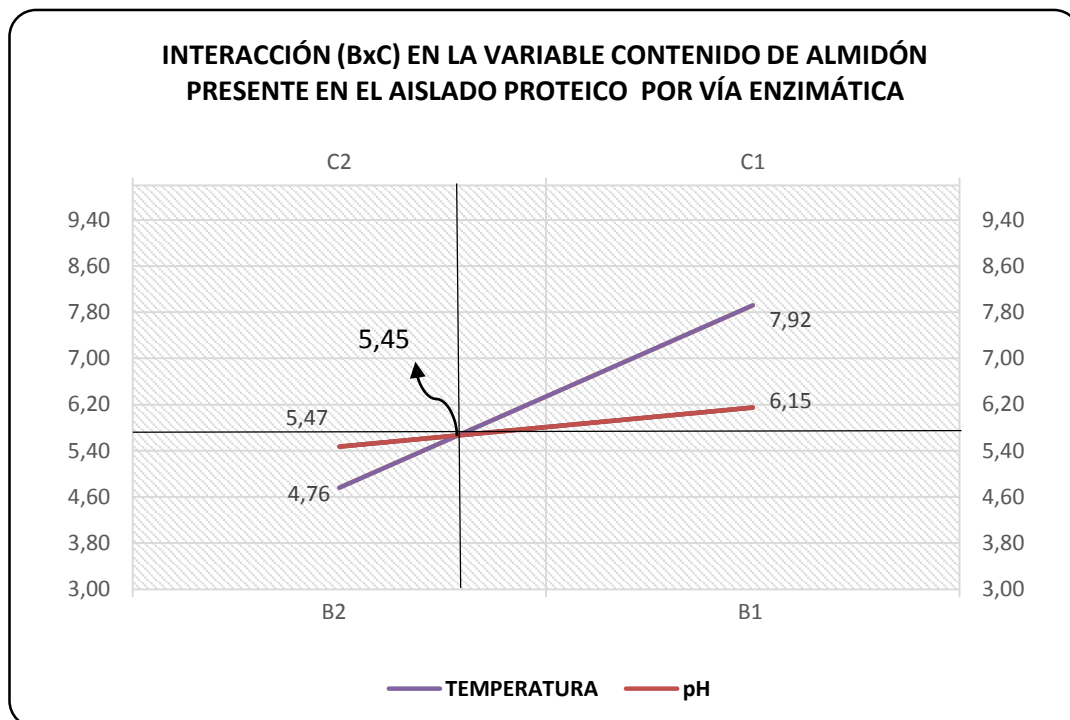


Gráfico 13. Interacción BxC en la variable contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N° 13, se observa el comportamiento de las medias de los respectivos factores B y C, la temperatura a diferentes pH. Se visualiza el punto óptimo en el cuadrante B1C2 con 5,45 que indica el punto de equilibrio donde la temperatura B1 (60°C) y C2 (pH 7,5); son parámetros apropiados para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, la temperatura factor indispensable para que sea estable, realice su actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares y menor contenido de almidón presente en el aislado.

4.1.2.3 Variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

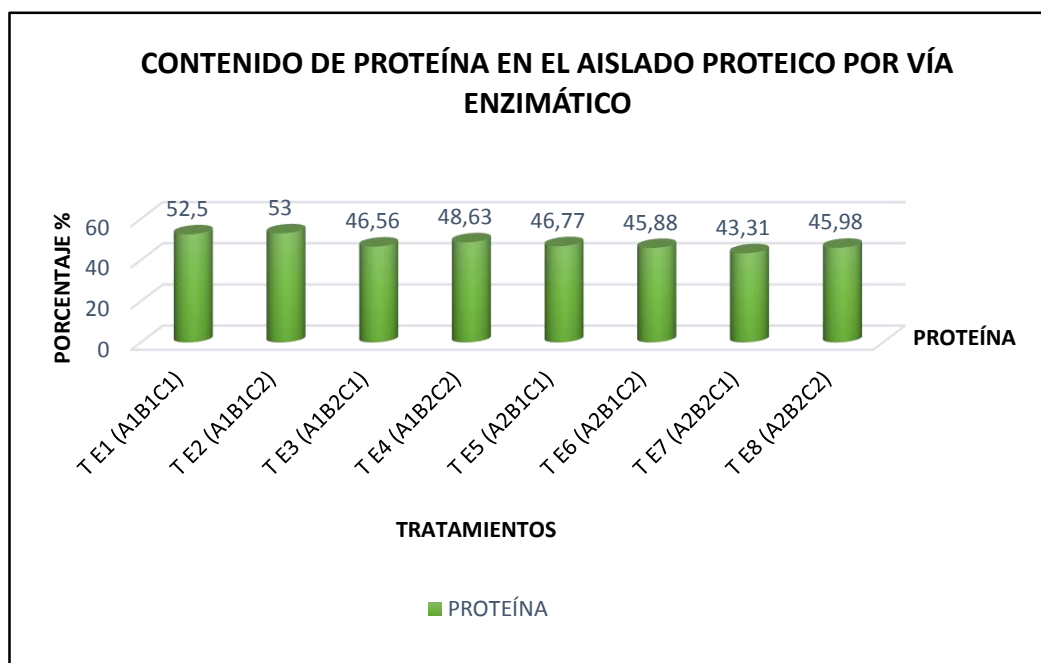


Gráfico 14. Contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°14, el aislado proteico por vía enzimática, alcanzó un contenido de proteína de 53% en el TE2 (0,025g a 60°C y pH 7,5), resultado superior con respecto a la investigación realizada por Mufari et al (2013), que obtuvieron un aislado de quinua con 40% de proteína, empleando cuatro enzimas α -amilasa, glucoamilasa, pululanasa y celulasa para degradar tanto el almidón como la celulosa en glucosa. En cuanto, al bajo contenido de proteína presente en el aislado, se debió a que la enzima atacó algunas ramificaciones en los enlaces glucosídicos α (1-6) de la amilopectina; por lo que existe una cierta fracción del almidón que no es degradado por completo. Concluyendo que los hidratos de carbono permanecen intactos y asociados a las proteínas.

Análisis de varianza para el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

F.V.	SC	GI	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	238,57	7	34,08	11,51**	2,59	3,89
FACTOR A	131,60	1	131,60	44,44**	3,63	6,23
FACTOR B	70,25	1	70,25	23,72**	3,63	6,23
FACTOR C	7,09	1	7,09	2,39NS	3,63	6,23
FACTOR AXB	18,06	1	18,06	6,10*	4,49	8,53
FACTOR AXC	0,23	1	0,23	0,08NS	4,49	8,53
FACTOR BXC	9,86	1	9,86	3,33NS	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	1,49	1	1,49	0,50NS	4,49	8,53
ERROR	47,39	16	2,96			
TOTAL	285,96	23				

C.V. = 3,60%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

*: SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza, para el contenido de proteína presente en el aislado proteico por vía enzimática, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), factor C (pH), interacción (AxB) significativo e interacción (AxC), interacción (BxC). Es decir, la concentración de enzima, la temperatura y el pH influyen en la degradación del almidón para la extracción de la proteína.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura) y factor C (pH) respectivamente.

Tabla 14. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática

TRATAMIENTOS	Medias	RANGO
T_E2 (A1B1C2)	53,00	a
T_E1 (A1B1C1)	52,50	a
T_E4 (A1B2C2)	48,63	a b
T_E5 (A2B1C1)	46,78	b c
T_E3 (A1B2C1)	46,56	b c
T_E8 (A2B2C2)	45,98	b c
T_E6 (A2B1C2)	45,89	b c
T_E7 (A2B2C1)	43,31	c

T_E: Tratamiento enzimático

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que en el rango “a” se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene mayor cantidad de proteína presente en el aislado, cuyo valor es: 53,00% que corresponde al tratamiento T_E2 (0,025g a 60°C y 7,5pH) respectivamente.

Tabla 15. Prueba de diferencia mínima significativa, para factor A, factor B y factor C en el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO	FACTOR B	MEDIAS	RANGO
A1	52,17	a	B1	52,12	a
A2	44,49	b	B2	42,54	b

FACTOR C	Medias	RANGO
C2	53,37	a
C1	49,29	a

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa, para los factores **A** concentración de enzima (52,17), **B** temperatura (52,12) y **C** pH (53,37), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”.

Por lo tanto, los parámetros utilizados en el T_{E2} (0,025g a 60°C y pH 7,5), son apropiados para que la enzima Diastasa hidrolice el almidón de quinua liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener mayor cantidad de proteína presente en el aislado proteico.

Interacción AxB en la variable contenido de proteína en el aislado por vía enzimática.

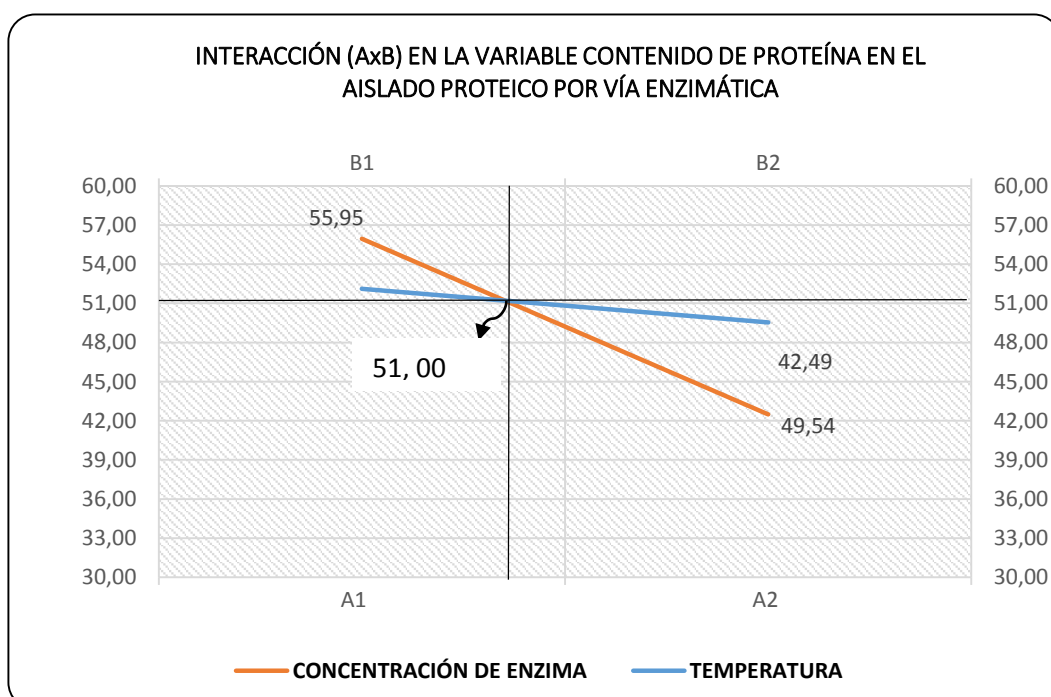


Gráfico 15. Interacción AxB en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°15, se observa el comportamiento entre los factores A y B y se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A1B1 con 51,00 que indica el punto de equilibrio donde la concentración de enzima (0,025g) y B1 temperatura (60°C), son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener proteína presente en el aislado proteico.

Interacción AxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

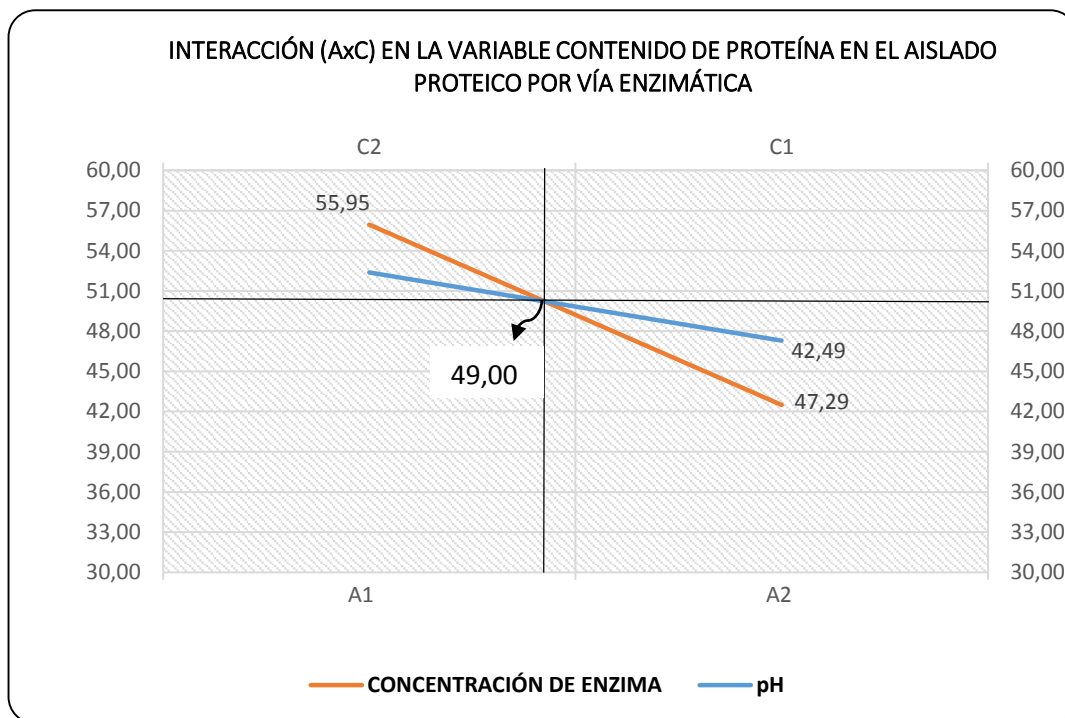


Gráfico 16. Interacción AxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°16, podemos observar el comportamiento entre los factores A y C. Se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A1C2 con 49,00 que indica el punto de equilibrio donde A1 la concentración de enzima (0,025g) y C2 pH (7,5) son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener proteína presente en el aislado proteico.

Interacción BxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

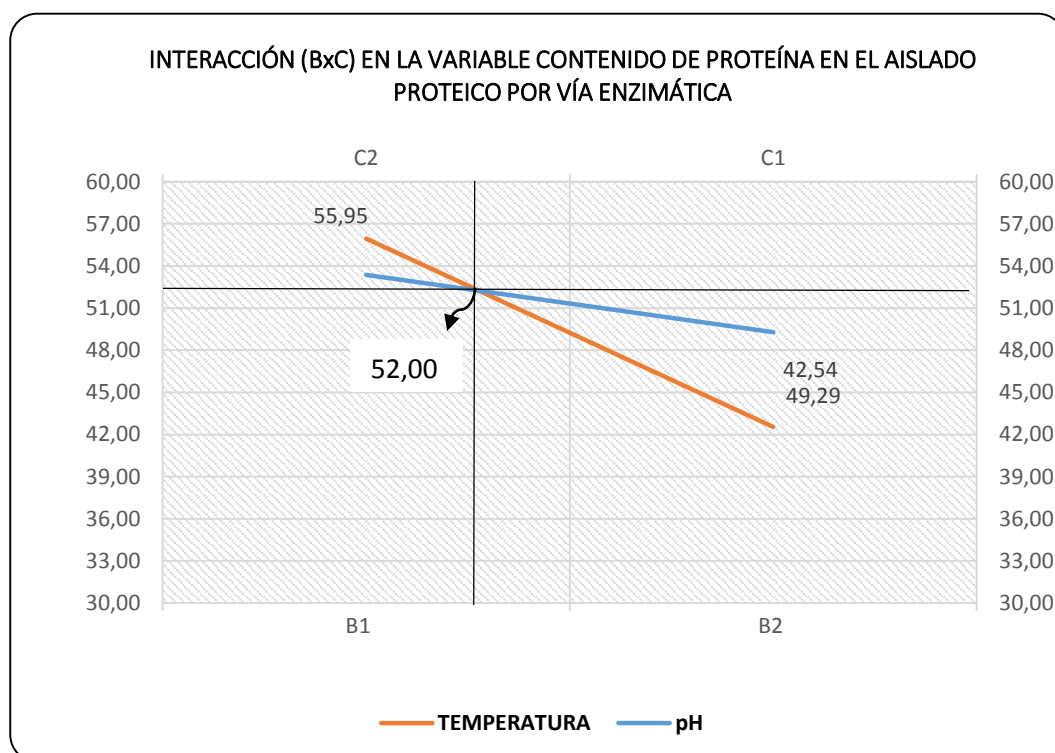


Gráfico 17. Interacción BxC en la variable contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°17, podemos observar el comportamiento entre los factores B y C. Se visualiza el punto óptimo en el cuadrante B1C2 con 52,00 que indica el punto de equilibrio donde B1 la temperatura (60°C) y C2 pH (7,5) son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener proteína presente en el aislado proteico.

4.1.2.4 Variable rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática en 200g.



Gráfico 18. Rendimiento del aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N° 18, el aislado proteico por vía enzimática, obtuvo un rendimiento de 49,23% en el T_{E2} (0,025g a 60°C y pH 7,5); el dato registrado es inferior en comparación Bermúdez (2013), que obtuvo un rendimiento de 95,16% en el aislado enzimático de chocho, utilizando la enzima glucoamilasa a 50°C. Es decir, el bajo rendimiento del aislado enzimático, se debió a un bajo contenido de proteína, alto contenido de almidón de la quinua con respecto al chocho. De igual manera, la enzima utilizada no logro atacar algunas ramificaciones en los enlaces glucosídicos α (1-6) de la amilopectina; por lo que existe una cierta fracción que no es degradada por completo, obteniendo un aislado con alto rendimiento pero bajo en calidad proteica.

Análisis de varianza en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática

F.V.	SC	Gl	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	194,52	7	27,79	21,40**	2,59	3,89
FACTOR A	59,82	1	59,82	46,07**	3,63	6,23
FACTOR B	36,89	1	36,89	28,41**	3,63	6,23
FACTOR C	6,22	1	6,22	4,79*	3,63	6,23
FACTOR AXB	48,25	1	48,25	37,16**	4,49	8,53
FACTOR AXC	0,18	1	0,18	0,14NS	4,49	8,53
FACTOR BXC	0,13	1	0,13	0,10NS	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	43,04	1	43,04	33,14**	4,49	8,53
ERROR	20,78	16	1,30			
TOTAL	215,30	23				

C.V. = 2,63%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

* : SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza para el contenido de proteína presente en el aislado proteico por vía enzimática, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), factor C (pH), interacción (AxB) e interacción (AxC), interacción (BxC) no significativo y la Interacción (AxBxC) alta significación, es decir la concentración de enzima, la temperatura y el pH influyen en la hidrólisis del almidón.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura) y factor C (pH) respectivamente.

Tabla 16. Prueba de Tukey al 5 % para el contenido de proteína en el aislado proteico por vía enzimática.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO
T_E2 (A1B1C2)	49,23	a
T_E1 (A1B1C1)	45,85	b
T_E8 (A2B2C2)	43,91	b c
T_E3 (A1B2C1)	43,07	b c d
T_E5 (A2B1C1)	42,36	c d
T_E4 (A1B2C2)	41,38	c d
T_E6 (A2B1C2)	40,73	c d
T_E7 (A2B2C1)	39,89	d

T_E: Tratamiento enzimático

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que en el rango “a” se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene mayor rendimiento en el aislado, cuyo valor es: 49,23%; que corresponde al tratamiento T_E2 (0,025g a 60°C y 7,5pH) respectivamente.

Tabla 17. Prueba de diferencia mínima significativa para factor A, factor B y factor C en la variable rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO
A1	48,88	a
A2	41,72	b

FACTOR B	MEDIAS	RANGO
B1	47,54	a
B2	45,06	b

FACTOR C	MEDIAS	RANGO
C2	46,81	a
C1	45,79	a

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** concentración de enzima (48,88), **B** temperatura (47,54) y **C** pH (46,81), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Por lo tanto los parámetros utilizados en el T_E2 (0,025g a 60°C y pH 7,5) son los apropiados para que la enzima Diastasa hidrolice el almidón de quinua liberando mayor cantidad de azúcares y permitiendo obtener mayor rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática.

Interacción AxB en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática.

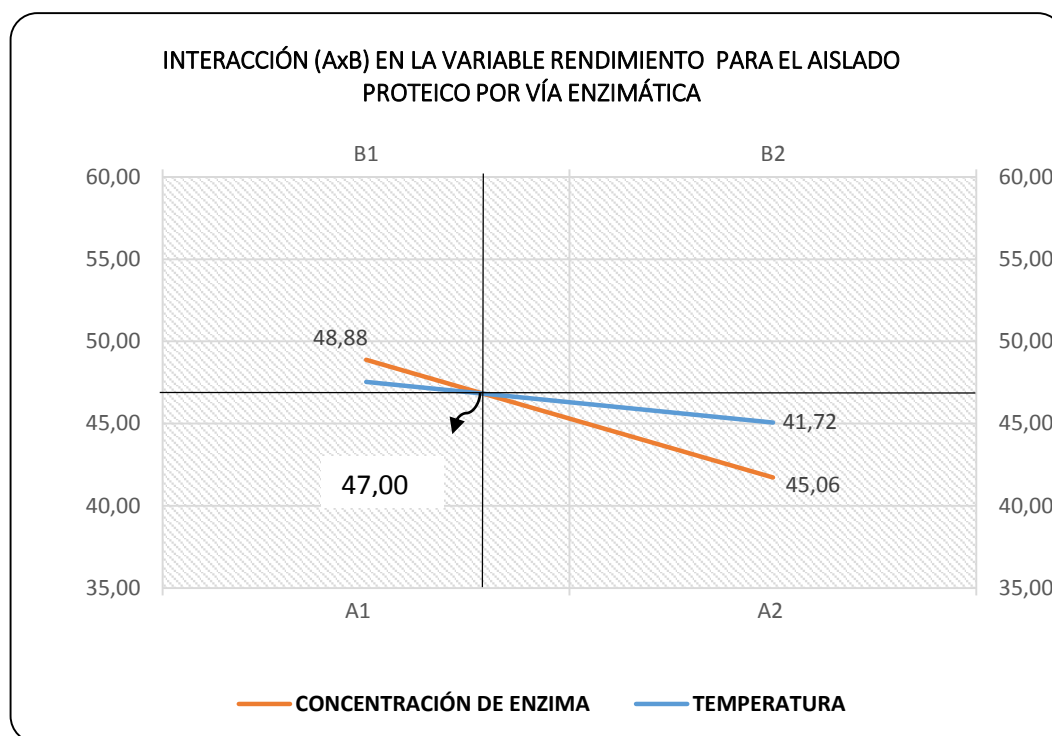


Gráfico 19. Interacción AxB en la variable rendimiento en el aislado proteico por vía enzimática.

En el gráfico N°19, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A1B1 con 47,00 que indica el punto de equilibrio donde A1 concentración de enzima (0,025 g) y B1 (60°C) son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener mayor rendimiento en el aislado.

Interacción AxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática

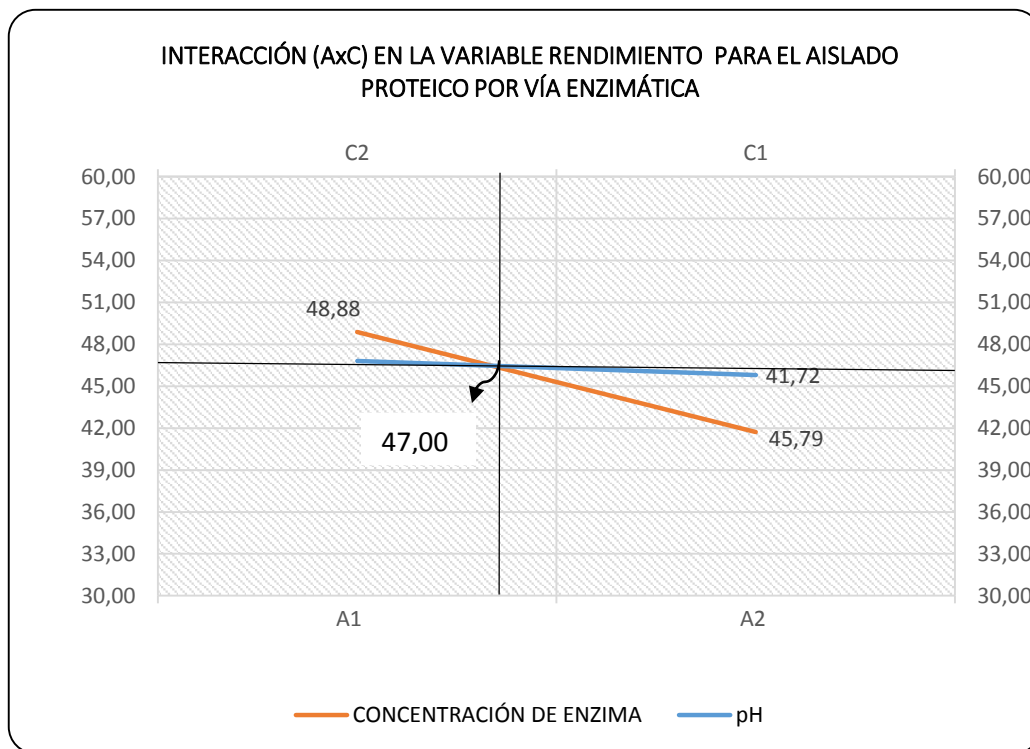


Gráfico 20. Interacción AxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°20, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A1C2 con 47,00 que indica el punto de equilibrio donde A1 concentración de enzima (0,025 g) y C2 pH (7,5) son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener mayor rendimiento en el aislado proteico.

Interacción BxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática

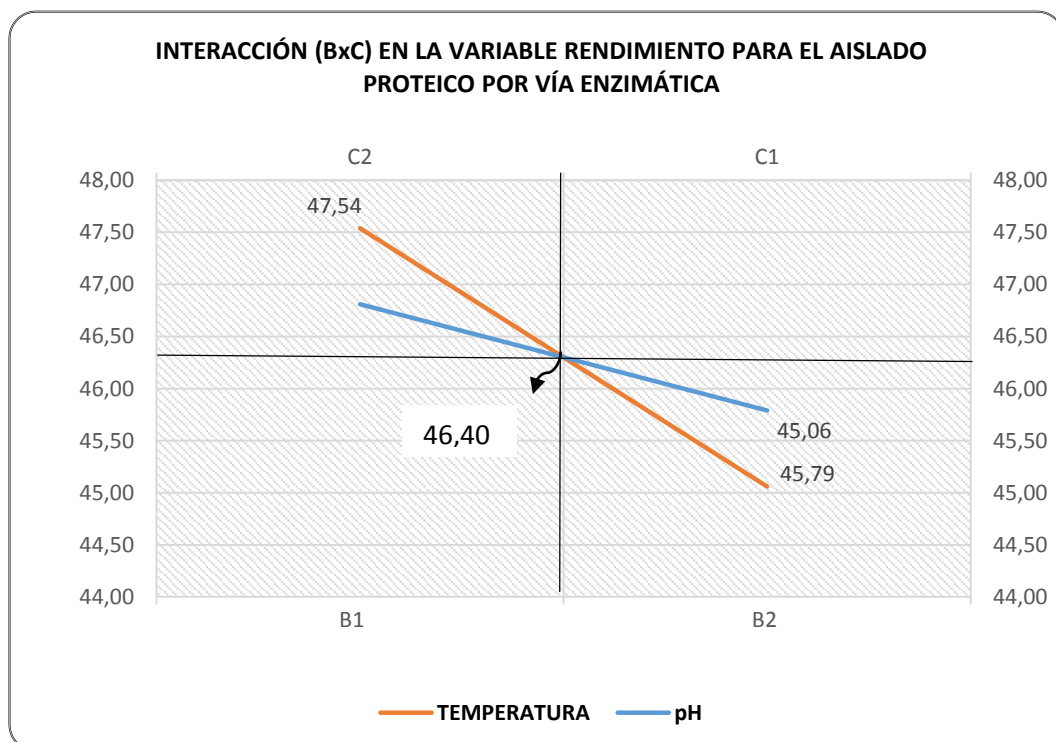


Gráfico 21. Interacción BxC en la variable rendimiento para el aislado proteico por vía enzimática

En el gráfico N°21, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante B1C2 con 46,40 que indica el punto de equilibrio donde B1 temperatura (60°C) y C2 pH (7,5) son parámetros apropiados, para que la enzima Diastasa trabaje de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable y realice actividad catalítica para la hidrólisis del almidón liberando mayor cantidad de azúcares, permitiendo obtener mayor rendimiento en el aislado.

4.2 DETERMINAR LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS PARA LA OBTENCIÓN DE UN HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA.

Los resultados de los ensayos 4.1.1 y 4.1.2 orientaron la elección de la tecnología apropiada para la obtención del aislado proteico, con el cual se evaluó las dos metodologías y se obtuvo un mejor contenido de proteína por precipitación isoeléctrica T2 (ácido cítrico, pH 9 con un lavado) representando 66,21% de proteína; con el cual se tomó para el proceso en la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

4.2.1.1 Variable Grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoeléctrica para la obtención de proteína hidrolizada.

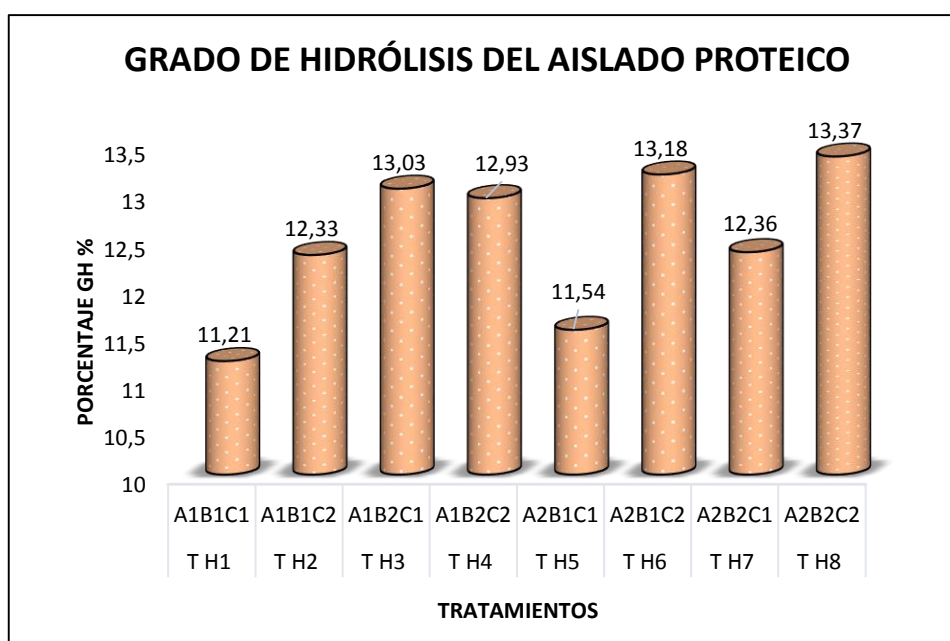


Gráfico 22. Grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoeléctrica

En el gráfico N° 22, en el proceso de hidrólisis del aislado proteico por precipitación isoeléctrica, alcanzó un grado de hidrólisis de 13,37% en el T_H8 (0,159 UA/g de enzima a 65°C y pH 6,5), porcentaje inferior, con respecto a las investigaciones realizadas por Villacrés et al (2014) con 26,27% de grado de hidrólisis en el chocho y Zapata (2011) con 22,07% de grado de hidrólisis en la soya, utilizando dos

enzimas papaína y flavorzyme que permiten una mayor ruptura de los enlaces pépticos de la proteína. Por lo tanto, el bajo grado de hidrólisis que presentó el hidrolizado proteico de quinua, se debió a un bajo proceso hidrolítico, debido trabajó con una sola enzima la papaína, la que posiblemente no logró romper los enlaces internos de la proteína por lo que permanecen intactos los grupos carboxilos y grupo aminos en algunos aminoácidos.

Análisis de varianza para el variable grado de hidrólisis en el asilado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.

F.V.	SC	GI	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	12,91	7	1,84	5,22**	2,59	3,89
FACTOR A	8,36	1	8,36	23,89**	3,63	6,23
FACTOR B	4,33	1	4,33	12,25**	3,63	6,23
FACTOR C	5,00	1	5,00	14,17**	3,63	6,23
FACTOR AXB	4,22	1	4,22	12,06**	4,49	8,53
FACTOR AXC	2,03	1	2,03	5,80*	4,49	8,53
FACTOR BXC	2,32	1	2,32	6,63*	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	1,15	1	1,15	3,29NS	4,49	8,53
ERROR	5,65	16	0,35			
TOTAL	18,55	23				

C.V. = 4,76%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

* : SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza para el grado de hidrólisis de la proteína en el aislado proteico por precipitación isoelectrica, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), factor C (pH), interacción (AxB), interacción (AxC), interacción (BxC), y la interacción (AxBxC) no significativo, es decir que la concentración de enzima, la temperatura y el pH influyen en el proceso hidrolítico permitiendo romper enlaces peptídicos de la proteína.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura) y factor C (pH) respectivamente.

Tabla 18. Prueba de Tukey al 5 % para el grado de hidrólisis en el aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO		
T_{H8} (A2B2C2)	13,37	a		
T_{H6} (A2B1C2)	13,18	a	b	
T_{H3} (A1B2C1)	13,03	a	b	
T_{H4} (A1B2C2)	12,90	a	b	
T_{H7} (A2B2C1)	12,36	a	b	c
T_{H2} (A1B1C2)	12,33	a	b	c
T_{H5} (A2B1C1)	11,54		b	c
T_{H1} (A1B1C1)	11,21			c

T_H: Tratamiento Hidrolizado

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que en el rango “a”. Se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene mayor grado de hidrólisis en el aislado proteico, cuyo valor es: 13,37% que corresponden al tratamiento T_{H8} (0159 UA a 65°C con pH 6,5) respectivamente.

Tabla 19. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A, factor B y factor C en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO
A2	12,61	a
A1	12,17	b

FACTOR B	MEDIAS	RANGO
B2	12,98	a
B1	11,00	b

FACTOR C	MEDIAS	RANGO
C2	12,20	a
C1	12,10	b

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** concentración de enzima (12,61), **B** temperatura (12,98) y **C** pH (12,20), se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Por lo tanto los parámetros utilizados en el T_{H8} (0,159 UA/g a 65°C y pH 6,5) son los apropiados para que la

enzima papaína logre romper los enlaces peptídicos internos de la proteína y permita obtener péptidos libres de menor tamaño molecular.

Interacción AxB para la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica para la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

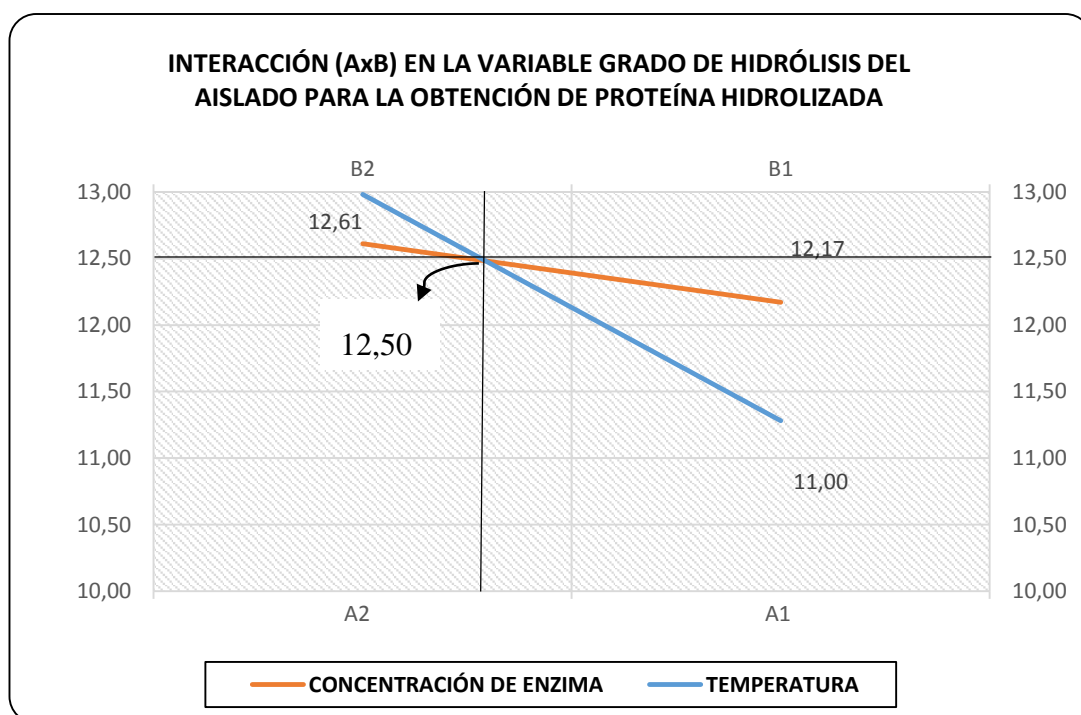


Gráfico 23. Interacción AxB en la variable grado de hidrólisis de la proteína

En el gráfico N°23, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A2B2 con 12,50 que indica el punto de equilibrio donde A2 concentración de enzima (0,159 UA/g) y B2 temperatura (65°C) son parámetros adecuados para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, la temperatura factores indispensables en donde la enzima es estable, realice su actividad catalítica para la hidrólisis de la proteína.

Interacción AxC para la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica, para la obtención de proteína hidrolizada.

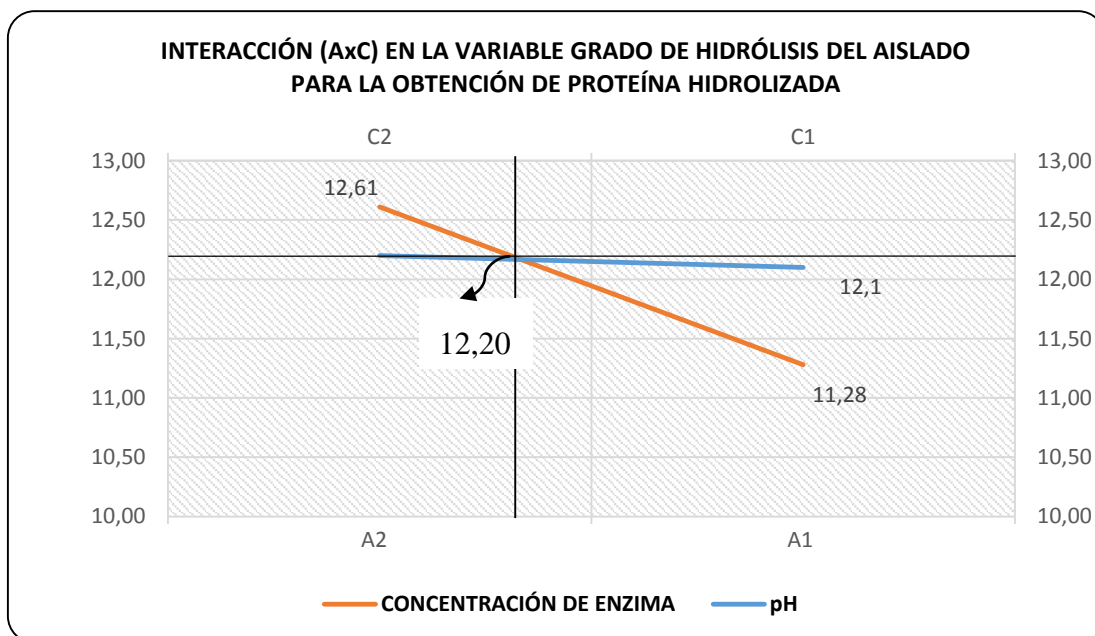


Gráfico 24. Interacción AxC en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica. .

En el gráfico N°24, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A2C2 con 12,20 que indica el punto de equilibrio donde A2 concentración de enzima (0,159 UA/g) y C2 pH (6,5) son parámetros apropiados, para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, el pH influya en la estructura tridimensional de la proteína sin provocar una desnaturalización, factores indispensables para la hidrólisis en el rompiendo de los enlaces peptídicos internos de la proteína.

Interacción BxC para la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica, para la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

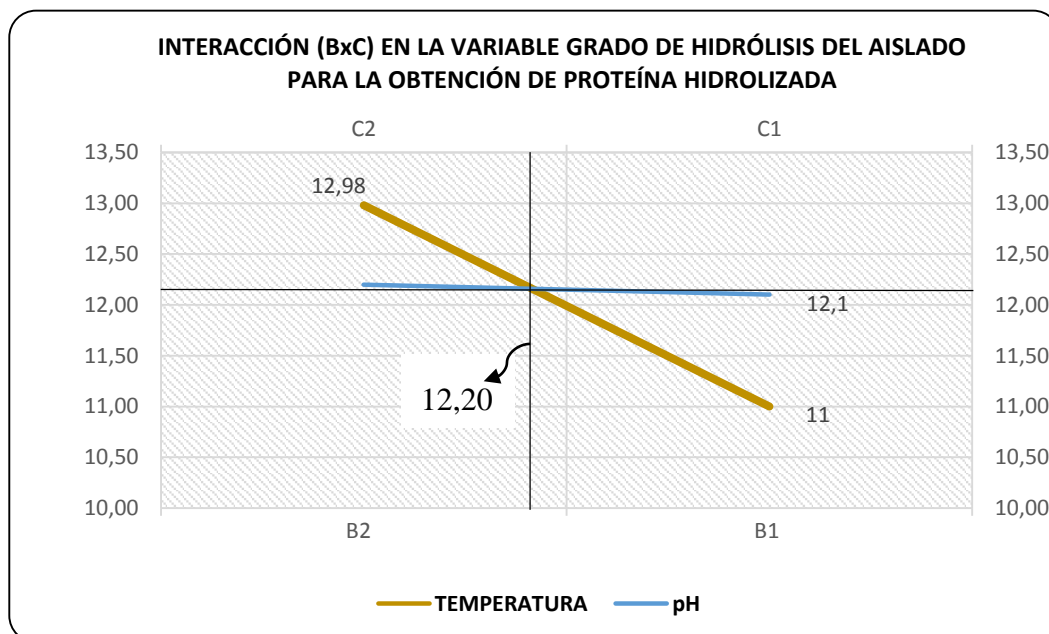


Gráfico 25. Interacción BxC en la variable grado de hidrólisis en el aislado proteico por precipitación isoelectrica.

En el gráfico N°25, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante B2C2 con 12,20 que indica el punto de equilibrio donde B2 temperatura (65°C) y C2 pH (6,5) son parámetros apropiados, para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable, realice actividad catalítica en la hidrólisis de sus enlaces peptídicos internos de la proteína; factores indispensables para que influyan en la estructura tridimensional de la proteína sin causar una desnaturalización.

4.2.1.2 Variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico por precipitación isoelectrica, para la obtención de proteína hidrolizada.

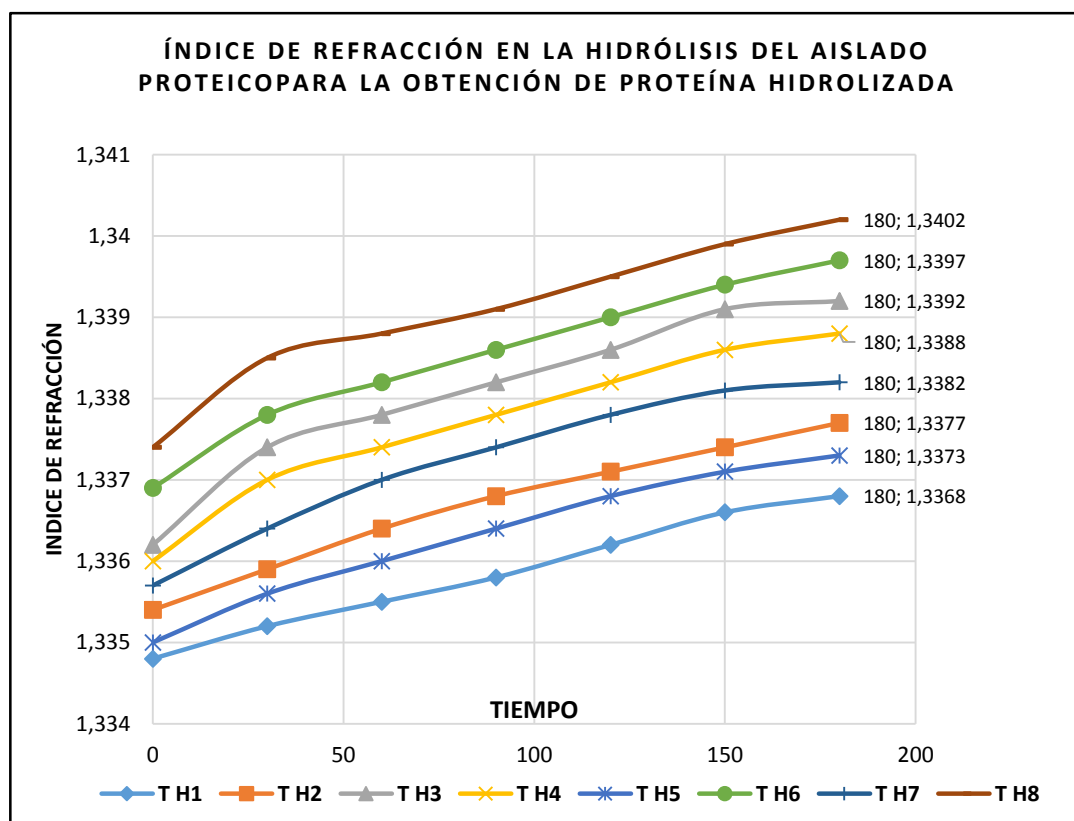


Gráfico 26. Índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico para la obtención proteína hidrolizada.

En el gráfico N° 26, en el proceso de hidrólisis del aislado proteico por precipitación isoelectrica, alcanzó un índice de refracción de 1,3402 en el T_{H8} (0,159 UA/g de enzima a 65°C con pH 6,5). Es decir a medida que avanzó el proceso hidrolítico de la enzima sobre el sustrato fue aumentado el cambio de dirección de luz indicativo de la ruptura de algunos enlaces peptídicos internos de la proteína. Por lo tanto el bajo índice de refracción, grado de hidrólisis parte fundamental del hidrolizado proteico de quinua, se debió a un bajo proceso hidrolítico ya que se trabajó con una sola enzima la papaína, la que posiblemente no logró romper los enlaces internos, externos de la proteína por lo que permanecen intactos los grupos carboxilos y grupos aminos en algunos aminoácidos.

Análisis de varianza para la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.

F.V.	SC	Gl	CM	FC	5%	1%
TRATAMIENTOS	0,8	7	0,11	5,19**	2,59	3,89
FACTOR A	0,42	1	0,42	19,09**	3,63	6,23
FACTOR B	0,40	1	0,40	18,18**	3,63	6,23
FACTOR C	0,58	1	0,58	26,36**	3,63	6,23
FACTOR AXB	0,25	1	0,25	11,36**	4,49	8,53
FACTOR AXC	0,18	1	0,18	8,18*	4,49	8,53
FACTOR BXC	0,14	1	0,14	6,36*	4,49	8,53
FACTOR AXBXC	0,17	1	0,17	7,73*	4,49	8,53
ERROR	0,35	16	0,022			
TOTAL	0,01	23				

C.V. = 1,34%

NS: NO SIGNIFICATIVO

** : ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

*: SIGNIFICATIVO

C.V: COEFICIENTE DE VARIACIÓN

En el análisis de varianza para el índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico por precipitación isoeléctrica, se detectó que existe alta significación estadística para los tratamientos, factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura), factor C (pH), interacción (AxB), interacción (AxC), interacción (BxC), y la interacción (AxBxC) significativo, es decir que la concentración de enzima, la temperatura y el pH influyen en el proceso hidrolítico permitiendo romper enlaces peptídicos de la proteína.

Se realizó pruebas de significación Tukey al 5% para tratamientos y Diferencia mínima significativa para el factor A (concentración de enzima), factor B (temperatura) y factor C (pH) respectivamente.

Tabla 20. Prueba de Tukey al 5 % para el índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico para la obtención de proteína hidrolizada.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
T_H8 (A2B2C2)	1,3402	a	
T_H6 (A2B1C2)	1,3397	a	b
T_H3 (A1B2C1)	1,3392	a	b
T_H4 (A1B2C2)	1,3388		b
T_H7 (A2B2C1)	1,3382	b	c
T_H2 (A1B1C2)	1,3377		c
T_H5 (A2B1C1)	1,3373		c d
T_H1 (A1B1C1)	1,3368		d

T_H: Tratamiento Hidrolizado

Al realizar la prueba de Tukey al 5% se pudo establecer que: en el rango “a” se encuentra el mejor tratamiento, el cual contiene mayor cambio de dirección de luz en el proceso hidrolítico del aislado proteico, cuyo valor es: 1,3402 que corresponde a los tratamientos T_H8 (0,159 UA/g a 65°C con pH 6,5) respectivamente.

Tabla 21. Prueba de diferencia mínima significativa para el factor A, factor B y factor C en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO	FACTOR B	Medias	RANGO
A2	1,3765	a	B2	1,3868	a
A1	1,3351	b	B1	1,3011	b

FACTOR C	MEDIAS	RANGO
C2	1,3608	a
C1	1,3568	b

Al realizar la prueba de diferencia mínima significativa para los factores **A** concentración de enzima (1,3765), **B** temperatura (1,3868) y **C** pH (1,3608). Se pudo evidenciar las mejores medias con un rango “a”. Por lo tanto los parámetros utilizados en el T_H8 (0,159 UA/g a 65°C y pH 6,5) son los apropiados para que la enzima papaína logre romper los enlaces peptídicos internos de la proteína y permita obtener péptidos libres de menor tamaño molecular.

Interacción AxB para la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico, para la obtención de proteína hidrolizada.

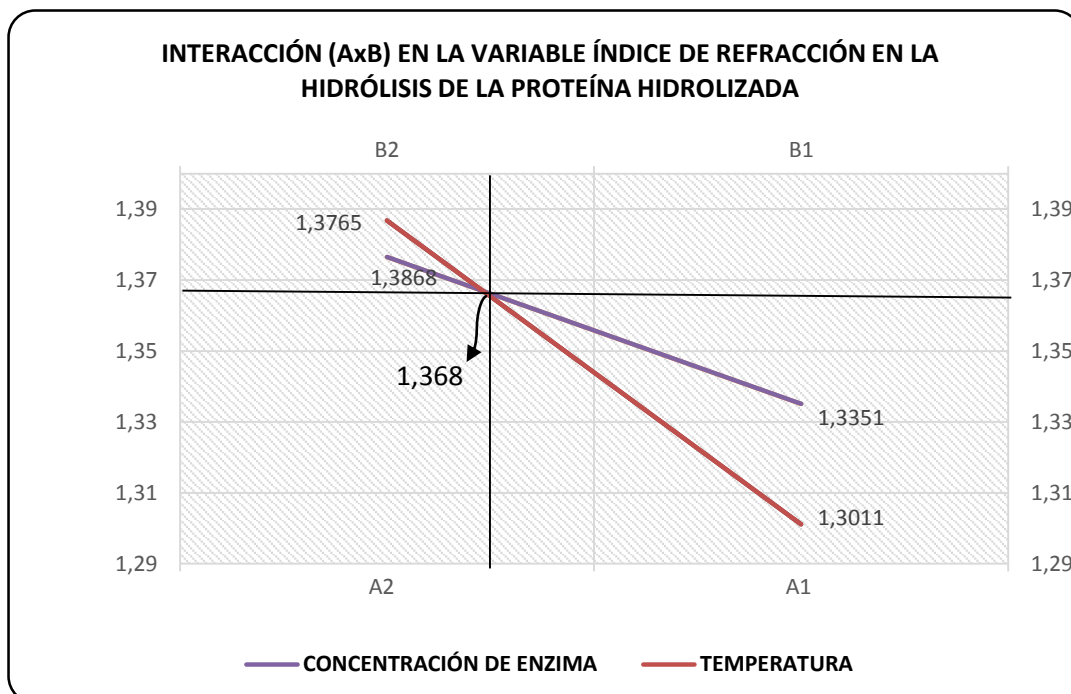


Gráfico 27. Interacción AxB en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico

En el gráfico N°27, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A2B2 con 1,368 que indica el punto de equilibrio donde A2 concentración de enzima (0,159 UA/g) y B2 temperatura (65°C) son parámetros apropiados, para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, la temperatura factores indispensables en donde la enzima es estable, realice su actividad catalítica para la hidrólisis de la proteína.

Interacción AxC para la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico, para la obtención de proteína hidrolizada.

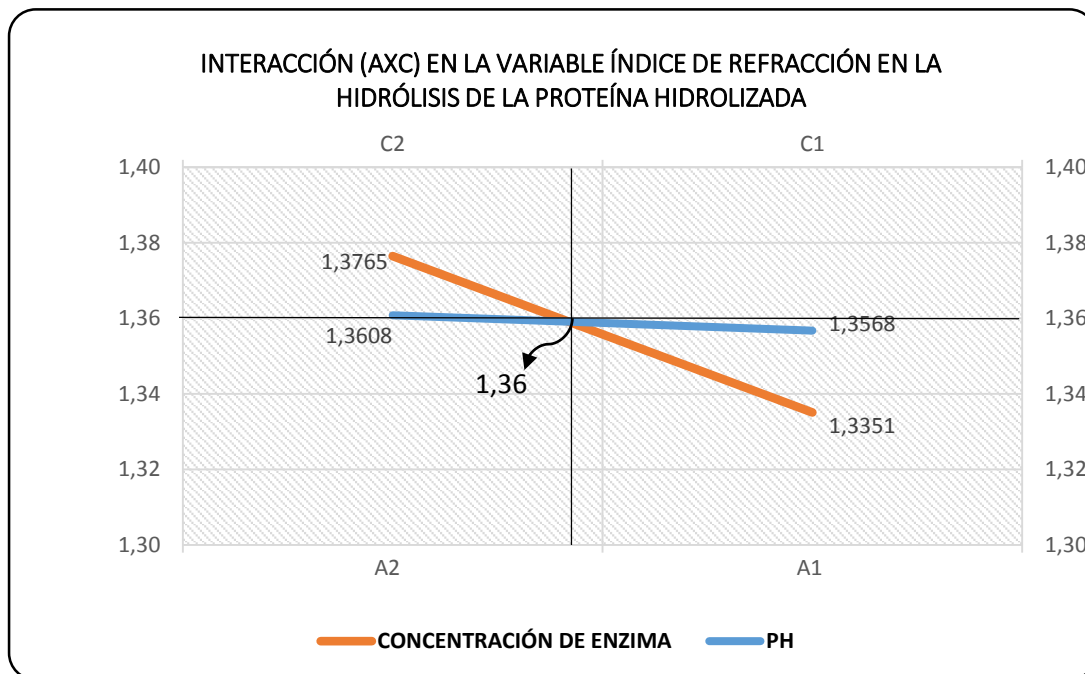


Gráfico 28. Interacción AxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.

En el gráfico N°28, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante A2C2 con 1,36 que indica el punto de equilibrio donde A2 concentración de enzima (0,159 UA/g) y C2 pH (6,5), son parámetros apropiados, para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, el pH influya en la estructura tridimensional de la proteína sin provocar una desnaturalización, factores indispensables para la hidrólisis en el rompiendo de los enlaces peptídicos internos de la proteína.

Interacción BxC para la variable índice de refracción en la hidrólisis del asilado proteico, para la obtención de proteína hidrolizada.

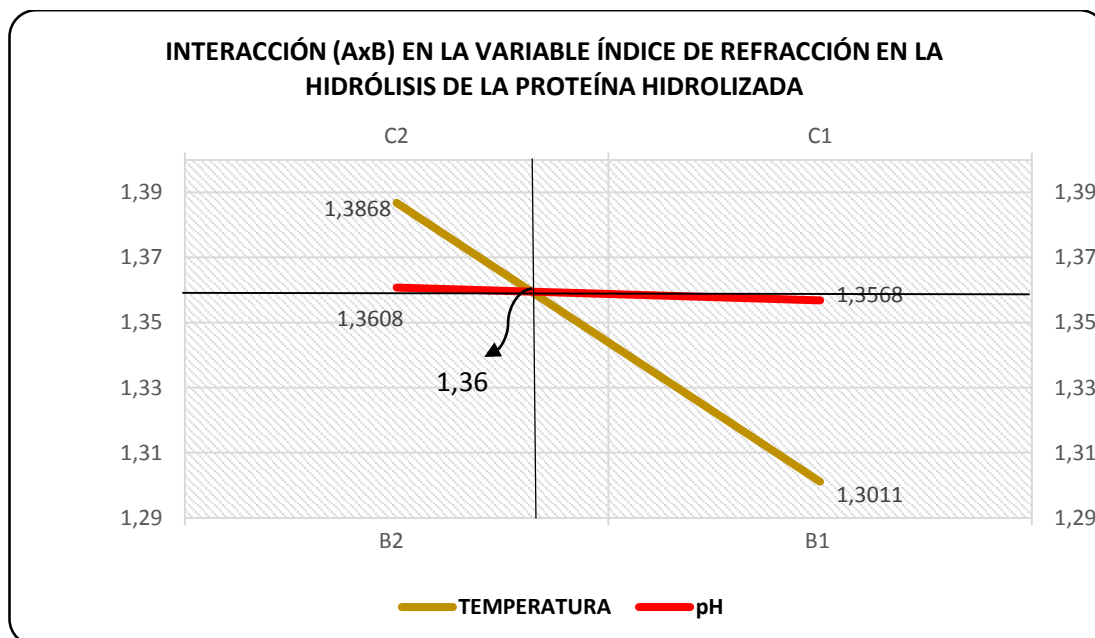


Gráfico 29. Interacción BxC en la variable índice de refracción en la hidrólisis del aislado proteico.

En el gráfico N°29, se visualiza el punto óptimo en el cuadrante B2C2 con 1,36 que indica el punto de equilibrio donde B2 temperatura (65°C) y C2 pH (6,5), son parámetros apropiados, para que la enzima funcione de manera eficiente sobre el sustrato, sea estable, realice actividad catalítica en la hidrólisis de los enlaces peptídicos internos de la proteína; factores indispensables para que influyan en la estructura tridimensional de la proteína sin causar una desnaturalización.

4.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA

El hidrolizado proteico de quinua, alcanzó un grado de hidrólisis (GH) de orden 13,37%, valor que indica que el hidrolizado posee propiedades funcionales y nutricionales apropiadas.

Tabla 22 Composición proximal del hidrolizado proteico de quinua (g/100g)

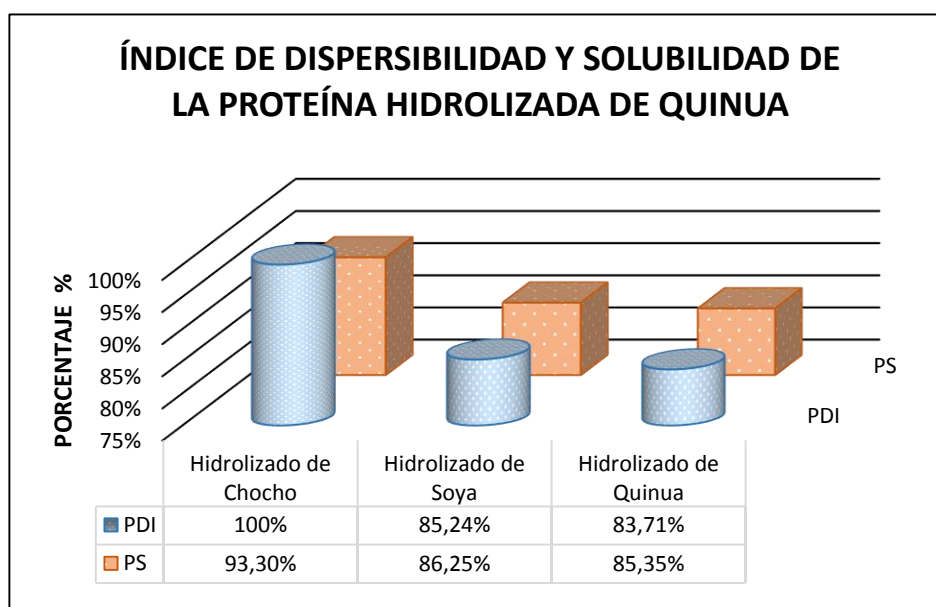
Determinación	contenido en 100g del hidrolizado
Proteína	73,41
Extracto Etéreo	0,02
Fibra cruda	0,015
Cenizas	0,40
Humedad	2,00

En la tabla N°22, se presentan los datos obtenidos del análisis proximal del hidrolizado proteico de quinua, con un valor de 73,41% en proteína. El incremento del valor en la proteína del hidrolizado, con respecto al valor del aislado fue de 7,2% los valores de extracto etéreo, carbohidratos totales y fibra cruda se encuentran en menor cantidad. El porcentaje de cenizas fue de 0,40% debido a la presencia de sales en los ajustes de pH para el desarrollo de la hidrólisis siendo necesario realizar más lavados en la obtención del aislado.

4.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL HIDROLIZADO PROTEICO

Las propiedades funcionales, se lo realizó con la finalidad de evaluar las características deseables que pueda impartir a un alimento o ingrediente aumentando la calidad de un producto. Con el mejor tratamiento obtenido de la proteína hidrolizada de quinua se procedió a evaluar las siguientes propiedades.

4.4.1 ÍNDICE DE DISPERSIBILIDAD Y SOLUBILIDAD DE LA PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA.



PDI Índice de dispersibilidad de la proteína
 PS Solubilidad de la proteína

Gráfico 30. Índice de dispersibilidad y solubilidad de la proteína hidrolizada de quinua

En el gráfico N° 30, el hidrolizado de quinua reveló un índice de dispersibilidad de 83,71% dato inferior con respecto a otras investigaciones realizadas por Villacrés et al (2014) que alcanzó un 100% de dispersibilidad de la proteína y Ávila (2011) que alcanzó un 85,24% de dispersibilidad de la proteína en el hidrolizado de soya, por medio de una hidrólisis secuencial con enzimas papaína y flavorzyme. Es decir la hidrólisis con enzimas exoproteasas y endoproteasas ataca enlaces peptídicos internos y externos de la proteína, permitiendo obtener péptidos de bajo peso molecular, aumentando la afinidad de las proteínas por las moléculas de agua, favoreciendo su dispersibilidad en ella.

Por lo tanto el bajo índice de dispersibilidad de la proteína en el hidrolizado de quinua, se debió a una hidrólisis baja ya que probablemente la endoproteasa papaína alcanzó a romper pocos en enlaces peptídicos internos de la proteína, lo cual se

traduce a un bajo porcentaje del rompimiento de la red neta de la proteína; una menor exposición de los grupos hidrófobos; lo que provoca una menor dispersión de la proteína, como también la presencia un cierto grado de desnaturalización de la proteína en el proceso de extracción del aislado proteico.

Por otra parte la solubilidad de la proteína presente en el hidrolizado quinua con un 85,35% a pH 10, es inferior en comparación a las investigaciones por Villacrés et al (2014) con 93,30% a pH 4,5 de solubilidad de la proteína en el hidrolizado de chocho y Ávila (2011) con 86,25% a pH 10 de solubilidad de la proteína en el hidrolizado de soya por medio de una hidrólisis secuencial con enzimas papaína y flavorzyme . Es decir la reacción hidrolítica extensiva da como resultado unidades peptídicas más pequeñas y la exposición de grupo amino y carboxilo ionizables, con la unión de moléculas de agua a la estructura proteica facilitando su rápida dispersión.

El aumento de la solubilidad se debe a que las proteínas pueden actuar como cationes y aniones que al poseer la misma carga eléctrica existe una mayor fuerza de repulsión mejorando así su estabilidad Giese (1995). Por lo tanto la solubilidad presente en el hidrolizado de quinua a pH 10 es totalmente soluble ya que no se formaron agregados voluminosos, pero a pesar de que la mayor solubilidad se alcanzó a este nivel de pH, no es conveniente debido a la posibilidad del rompimiento y pérdida de este componente como es la proteína. Pero tiene una buena capacidad de formar soluciones coloidales y es una alternativa para la fortificación de bebidas con proteína.

4.4.2 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA Y ACEITE EN EL HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA.

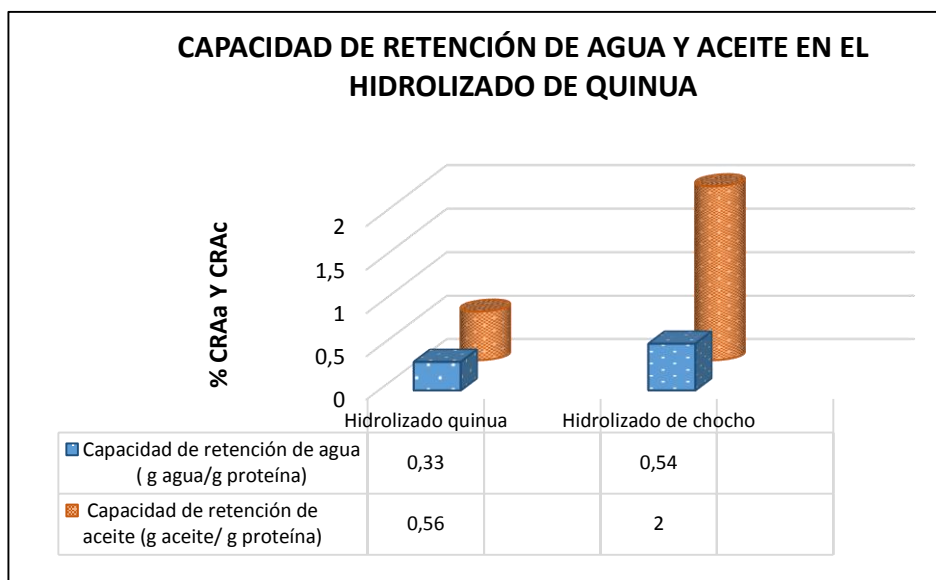


Gráfico 31. Capacidad de retención de agua y aceite en el hidrolizado de quinua

En el gráfico N° 31, la proteína hidrolizada de quinua presentó una menor capacidad de retención de agua 0,33 g agua/ g proteína y una mayor capacidad de retención de aceite 0,56 g aceite/ g proteína. Los datos obtenidos en esta investigación son inferiores en comparación a Villacrés et al (2014), que obtuvo una capacidad de retención de agua de 0,54 g agua/ g proteína y una mayor capacidad de retención de aceite de 2,00 g aceite/ g proteína en el hidrolizado de chocho por medio de una hidrólisis secuencial con enzimas papaína y flavorzyme. Esta permite la habilidad de la proteína en atrapar agua y aceite dentro de su matriz, debido a la distribución de numerosos grupos polares libres permitiendo una mayor interacción entre el agua y las moléculas de las proteínas Nelson (2011). No obstante, la capacidad de retención de aceite reaccionan fuertemente con los lípidos responsables de fijar mayores cantidades de aceite.

Por lo tanto los datos obtenidos en esta investigación son inferiores, con respecto al hidrolizado de chocho; debido a una hidrólisis baja ya que solo se trabajó con una sola enzima (papaína) donde probablemente alcanzó a romper pocos enlaces peptídicos internos de la proteína, lo cual se traduce a un bajo porcentaje del

rompimiento de la red neta de la proteína; una menor exposición de los grupos hidrófobos; como también otros factores que influyen en la capacidad de retención de agua y aceite son: la microestructura, el tamaño de la partícula, el pH, fuerza iónica y la desnaturalización de la proteína.

4.4.3 CAPACIDAD ESPUMANTE EN EL HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA.

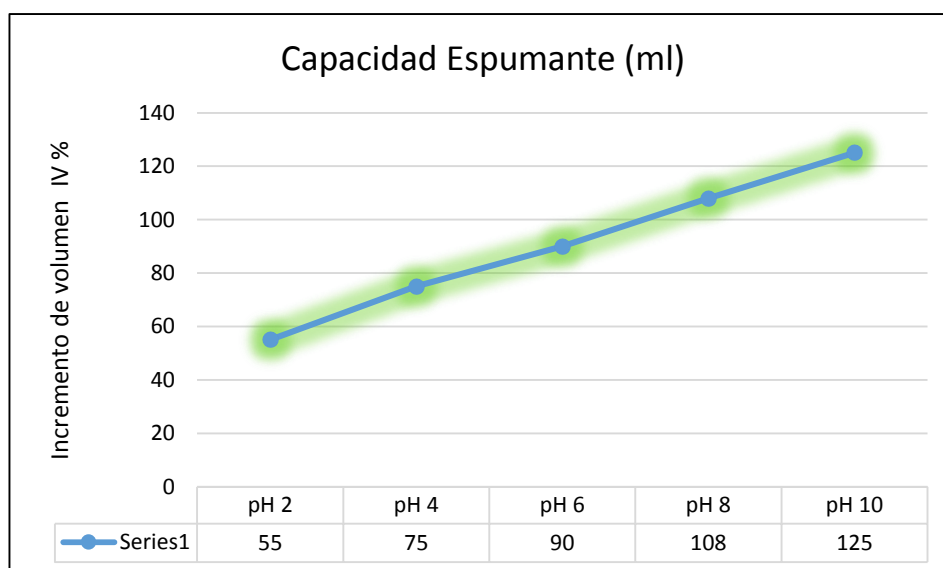


Gráfico 32. Efecto del pH sobre la capacidad espumante del hidrolizado de quinua

En el gráfico N° 32, la capacidad espumante de la proteína hidrolizada de quinua, alcanzó un incremento de volumen a partir del pH 10 con un porcentaje de 125%, los datos obtenidos en esta investigación son relativamente bajos en comparación a Villacrés et al (2014) que obtuvo un volumen de 460% a pH 10 en el hidrolizado de chocho por medio de una hidrólisis secuencial con enzimas papaína y flavorzyme. Es decir, para una mejor orientación de la interfase aire y agua es de importancia que la proteína presente una fuerte solubilidad para una buena capacidad espumante. Sin embargo los resultados de la capacidad espumante en el hidrolizado de quinua a diferencia del chocho, se debió a un proceso hidrolítico bajo ya que solo se trabajó con una sola enzima (papaína) donde probablemente alcanzó a romper pocos en enlaces peptídicos internos de la proteína, lo que posiblemente ocasionó una baja solubilización de la proteína, un bajo espumado,

por lo tanto es soluble no en su 100% pero puede desdoblarse en la interfase aire-agua orientando a la fase líquida y gaseosa respectivamente.

4.5 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES DEL HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA.

En la propiedad nutricional del hidrolizado, se evaluó la calidad de la proteína y su digestibilidad que a continuación se detallan.

4.5.1 CONTENIDO DE PROTEÍNA EN EL HIDROLIZADO PROTEICO DE QUINUA.

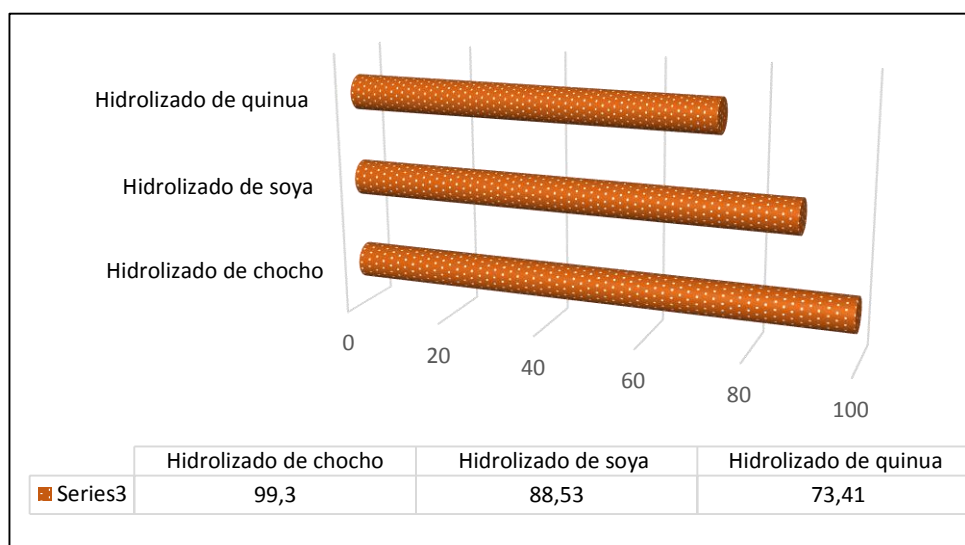


Gráfico 33. Contenido de proteína en el hidrolizado proteico de quinua.

En el gráfico N° 33, el hidrolizado proteico de quinua presentó un contenido de proteína de 73,41%, porcentaje inferior en comparación a las investigaciones realizadas por Villacrés et al (2014) con un contenido de proteína 99,3% en el hidrolizado de chocho y Zapata (2011) con un 88,53% de contenido de proteína en el hidrolizado de soya por medio de una hidrólisis secuencial con enzimas papaína y flavorzyme. Por lo tanto, el contenido de proteína presente en el hidrolizado proteico de quinua, se debió a que se obtuvo un porcentaje bajo de contenido de

proteína en aislado de quinua posiblemente por una desnaturalización de la proteína provocando la pérdida de ciertos aminoácidos y calidad de la proteína.

4.5.2 PERFIL DE AMINOÁCIDOS EN EL HIDROLIZADO DE QUINUA

Tabla 23. Composición de perfil de aminoácidos en g/100g de proteína hidrolizada de quinua

Aminoácidos	Grano de quinua	Aislado proteico de quinua (Rivera,2006)	Hidrolizado proteico de quinua g AA/100g
Histidina	4,6	1,98 ± 0,03	4,28
Isoleucina	7	3,30 ± 0,07	3,45
leucina	7,3	5,61 ± 0,13	6,25
Lisina	8,4	4,01 ± 0,05	4,25
Metionina	5,5	1,68 ± 0,02	1,82
Fenilalanina	5,3	3,43 ± 0,06	3,85
Treonina	5,7	3,34 ± 0,09	3,86
Triptófano	1,2	*	*
Valina	7,6	3,86 ± 0,08	3,93
Ác. Aspártico	8,6	6,16 ± 0,08	6,27
Ác. Glutámico	16,2	12,67 ± 0,51	12,75
Cistina	7	0,45 ± 0,13	*
Serina	4,8	3,98 ± 0,05	5,45
Tirosina	6,7	2,71 ± 0,05	2,85
Arginina	7,4	7,59 ± 0,25	7,25
Alanina	4,7	2,91 ± 0,07	4,23
Glicina	5,2	4,10 ± 0,11	4,69
Prolina	3,5	0,004 ± 0,002	0,25

Fuente: aminoácidos esenciales para el ser humano según la OMS/ ONU (Zegarra, 2010).

Fuente: contenido de aminoácidos en el aislado proteico de quinua A9 (Rivera, 2006).

La quinua contiene 16 aminoácidos, de los cuales 10 son esenciales: histidina, treonina, arginina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina y triptófano, los que no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser aportados por la dieta.

En la tabla N ° 23, el contenido de aminoácidos presente en el hidrolizado proteico de quinua no presenta proteínas biológicamente completas, ya que carece de concentración suficiente de aminoácidos esenciales estos resultados con

concuerdan con la investigación realizada por Rivera (2006) que obtuvo un aminoácido limitante en el aislado proteico de quinua A9. Esta pérdida, se debió durante el proceso para la obtención del aislado, ya sea durante la solubilización de la proteína a pH 9 o en la precipitación a pH 4,5 donde ocurrió una desnaturalización de la proteína provocando la pérdida de ciertos aminoácidos tales como triptófano y cistina. Por lo tanto, las proteínas al poseer uno o más aminoácidos limitantes restringen la síntesis proteica en el organismo y no pueden ser utilizadas completamente, pero puede mejorarse nutricionalmente, suplementándose con otras proteínas ricas en ese aminoácido esencial. No obstante a lo anterior se puede afirmar que el perfil aminoacídico del hidrolizado de quinua por medio del proceso hidrolítico permitió llegar a un grado de hidrólisis 13,37%, hidrolizado que le confiere la propiedad para mejorar las propiedades funcionales y nutricionales.

4.5.3 DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEINA EN EL HIDROLIZADO DE QUINUA

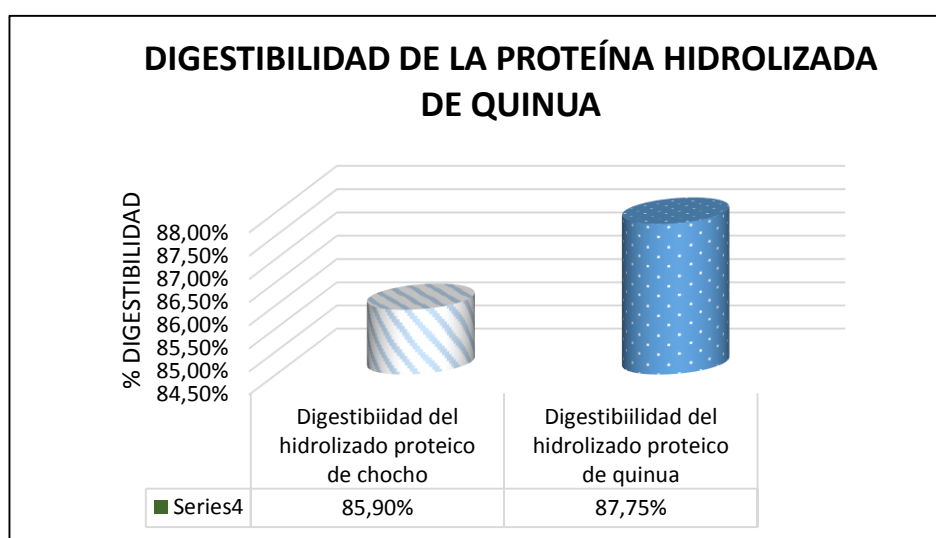


Gráfico 34. Digestibilidad de la proteína en el hidrolizado proteico de quinua

En el gráfico N°34, el hidrolizado proteico de quinua presentó una digestibilidad de proteína de 87,75% a pH 6,78 porcentaje mayor en comparación a la investigación realizada por Villacrés et al (2014) donde la digestibilidad del hidrolizado de chocho alcanzó un 85,90% a pH 6,88. Es decir la digestibilidad de la proteína indica

la asimilación de las proteínas la misma que es absorbida por el organismo después de la ingestión. Por lo tanto el ligero decrecimiento en la digestibilidad de la proteína, podría tener origen en el procesamiento de la proteína (inactivación térmica de las enzimas, liofilización, una leve desnaturalización, bajo proceso hidrolítico) como también tratamientos térmicos pueden inducir la alteración de algunos aminoácidos, incrementando el tiempo de digestión, como también a la formación de nuevos enlaces entre aminoácidos, lo que son inatacables por las enzimas digestivas (Fukushima, 1980).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Realizada la investigación de laboratorio y analizados los resultados se llegaron a las siguientes conclusiones:

* Evaluados los dos métodos para la obtención de un aislado proteico, se determinó que por vía enzimática se obtiene mayor rendimiento con relación al método isoeléctrico.

*El mejor tratamiento en rendimiento mediante el método enzimático fue a concentración de enzima Diastasa de 0,025g, temperatura de 60°C y pH 7,5 alcanzando un rendimiento promedio 49,23% de aislado proteico.

*Mediante el método isoeléctrico, el tratamiento con mayor rendimiento en aislado proteico es con los parámetros: solubilización a pH 9 y precipitación isoeléctrica a pH 4,5 dando un rendimiento promedio 12,48% de aislado proteico.

*Los parámetros de mayor efecto en la hidrólisis de la proteína de quinua fueron: concentración de enzima papaína 0,159 U_A/g de enzima, temperatura de 65 °C y pH de 6,5 durante 3 horas de reacción, alcanzando un grado de hidrólisis de 13,37%.

*En la evaluación de las propiedades funcionales del hidrolizado proteico de quinua, la dispersibilidad alcanzó un índice de 83,71%, solubilidad de 85,35% y una capacidad espumante 125% de volumen a pH 10, propiedades que pueden ser aprovechadas en la formulación de alimentos.

*Otras propiedades funcionales medidas fueron la capacidad de retención de aceite 0,56g aceite/g proteína y agua 0,33g agua/ g proteína, lo que pueden ser útiles en la elaboración de productos cárnicos impartiendo hidratación, jugosidad, textura y suavidad.

*A pesar de que existe cierta disminución y pérdida de aminoácidos como triptófano y cistina, el hidrolizado de quinua aporta un valor proteico de 73,41% y un adecuado balance de aminoácidos, según lo recomendado por la FAO para la nutrición humana.

*El grano de quinua presenta una digestibilidad del 79,00% y por medio de la hidrólisis enzimática la proteína de quinua alcanzó una digestibilidad de 87,75%, lo que indica una mayor disponibilidad de estos nutrientes para la absorción por parte de nuestro organismo.

*El proceso hidrolítico de la proteína por acción de la papaína, permitió obtener un hidrolizado de quinua soluble, funcional, proteico, permitiendo su potencial como ingrediente en la formulación de alimentos para el consumo humano.

*Mediante la investigación experimental, se determinó que los métodos de precipitación isoelectrica y enzimática para obtener un aislado proteico inciden en el contenido de proteína así como también en rendimiento, aceptando la hipótesis alternativa.

5.2 RECOMENDACIONES

*Con los resultados alcanzados en el aislado proteico de quinua, se recomienda aplicar el mejor procedimiento para la extracción de proteína de quinua germinada a diferentes tiempos, puesto que, mejora el contenido y a la vez acorta el tiempo de separación de componentes no proteicos.

*De igual manera, para la obtención un aislado por vía enzimática utilizando la enzima diastasa con propiedades alfa y beta amilasas, se surge probar con enzimas desramificadoras como: amiloglucosidasa, pulanasas, isoamilasa que hidrolizan enlaces α (1-6) del almidón, con el fin de encontrar mejores resultados en cuanto a rendimiento y contenido proteico.

*Al no ser eficiente la hidrólisis de la proteína con la enzima papaína, se surge la aplicación de otras enzimas proteasas con amplia especificidad a los aminoácidos para alcanzar un mayor grado hidrólisis permitiendo romper los enlaces peptídicos internos y externos de la proteína.

*Aplicar los aislados e hidrolizados proteicos como ingredientes en la elaboración de múltiples productos tales como: cárnicos, bebidas, panadería, entre otros ofertando nuevas fuentes nutricionales al consumidor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. (1984). Association of official Analytical chemists. official methods of analysis. (955.39.).
- Acuña, O., & Caiza, J. (2010). Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*lupinus mutabilis*) a partir de harina integral. *Revista Politécnica*, 29(1), 70-77.
- Acuña, O., & Simbaña, C. (2010). Estudio de las propiedades físicas y funcionales de un hidrolizado enzimático de proteína de chocho a escala piloto y su aplicación como fertilizante. *Politécnica*, 50.
- American Association of cereal chemists. (2011). En A. Nelson, *High- Fiber properties and analyses* (págs. 29-44). Minnessota.
- Atalah, E., & Araya, H. (2010). *Utilización de los hidrolizados proteicos de subproductos de pescado en la alimentación*. Informe, Universidad de Chile, Departamento de Nutrición, Chile.
- Ávila, A. (2011). *Determinación de las propiedades físico-químicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos*. Quito: Escuela politécnica nacional.
- Badui, D. S. (2013). Enzimas. En P. Educación (Ed.), *Química de los alimentos* (8 ed., Vol. 4, pág. 286). México.
- Barros, F. (2012). *Hidrólisis enzimática del almidón residual en extractos líquidos de camote (Ipomoea batatas L.), para la elaboración de miel y estudios de sus propiedades funcionales*. Trabajo de Grado, Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Bazile, D. B. (2014). *Estado del arte de la quinua en el mundo*. Santiago de Chile.
- Bazile, D., Calandri, E., Alanoca, C., & Alercia, A. (2014). El amidón de la quinua. En F. y. CIRAD, *Estado del arte de la quinua en el mundo 2013* (pág. 724). Santiago de Chile.

- Beltrán, A., & Herreño, L. (2010). *Aplicación de la enzima alfa-amilasa comercial 480L a la harrina de arroz de la variedad de fedearroz 50 para la elaboración de una bebida vegetal*. Tesis de grado, Universidad de la Salle, Bogotá.
- Bermúdez, G. C. (2013). *Aplicación del aislado de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), como sustituto del aislado de soya en la elaboración de salchicha*. Tesis de grado, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito.
- Blanco, A. (2010). *Química Biológica* (8 ed.). Argentina: El Ateneo.
- Caiza, A. J. (2011). *Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis*) a partir de harina integral*. Trabajo de pregrado, Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Calandri, E. (2015). Aspectos tecnológicos, Físicoquímicos y sensoriales. (G. F. V, Ed.) *Aprovechamiento integral del grano de quinoa*, 129.
- Callisaya, C., & Alvarado, A. (2009). Aislados proteínicos de granos Altoandinos Chenopodiaceas; Quinoa "*Chenopodium quinoa*"- Cañahua "*Chenopodium palliacaule*" por precipitación isoelectrónica. *Revista Boliviana de Química*, 26(1), 12-20.
- Camino, S. C. (2011). *Estudio de las proteínas físicas y funcionales de un hidrolizado enzimático de proteína de chocho a escala piloto y su aplicación como fertilizante*. Tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional, Ingeniería Química y Agroindustrial, Quito.
- Campos, S. M., Guerrero, C. L., & Betancur, D. (2013). Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias. *OmniaScience.*, 155-173.
- Casallas, V., Gonzales, M., Rodríguez, S., & Suta, C. (2015). Hidrólisis de almidón: análisis enzimático de diastasa. *Tecnología en Química Industrial*.
- Cervilla, N., & Miranda, P. (2015). *Aprovechamiento integral del grano de quinoa* (Vol. 1). (G. Florencia, Ed.) Córdoba, Argentina .

- Chau, C., cheung, K., & whon, Y. (1977). Funtional properties of protein concentrates from three chinese indigenius legume seed. *Agric and food chem.*
- Chiluisa, B. (2015). *Estudio del efecto de la hidrólisis enzimática en la obtención de un jarabe de glucos y fructuosa a partir del plátano maduro (Musa paradisiaca)*. Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato, Ambato.
- Comité de exportación de quinua. (2009). *Quinua, el grano de los Andes*. La Paz-Bolivia.
- FAO. (2013). Chemical camposition and nutritional evaluation of quinoa (Chenopodium quinoa). *Año internacional de la quinua* .
- FAO. (2013). Un fruto sembrado hace miles de años. *International Year of quinoa*.
- FAO/OMS/UNU. (2010). Macronutrientes: Carbohidratos, grasas y proteínas. En J. Dr Lupien, & FAO (Ed.), *Nutrición humana en el mundo en desarrollo* (pág. 106). Roma.
- Feduchi, R., Yáñez, B., & García, H. (2015). Aminoácidos y enlaces peptídicos . En *Bioquímica conceptos esenciales* (pág. 143). México.
- Fennema, O. (2010). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En *Química de los alimentos* (págs. 472-473). Acribia editorial.
- Figuroa, O., Zapata, J., Buelvas, L., & Ortiz, O. (2012). Hidrolizados proteicos y perspectivas del modelamiento en cinetica enzimática de proteínas. *Agunkuya*, 2(1).
- Fukushima, D. (1980). Deteriorative changes of proteins during soybean food processing and their use in foods in. En *Soybean food processing walworth* (págs. 211-239).
- Gallegos, S. (2012). *Actividad antioxidante y quelante de los productos de hidrólisis de proteínas de Jatropha curcas L*. Instituto Politécnico Nacional, Yautepec, Morelos, México.

- Gálvez, A., Flores, I., & González, A. (2013). Propiedades funcionales de las proteínas. En D. S. Badui, & P. Educación (Ed.), *Química de los alimentos* (8 ed., Vol. 4, pág. 286). México.
- Gálvez, M. A. (2012). Propiedades funcionales de las proteínas. En S. D. Badui, *Química de los alimentos* (págs. 191-192). México.
- González, C., Mojica, K., Olmos, C., Sánchez, E., & Tapia, F. (2012). *La enzima Papaína*. Panama.
- Hsu, e. a. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. of food Sc*, 5, 42.
- INEC. (2014). *Producción Agropecuaria continua de superficie, producción, y ventas nacional y provincial de quinua (grano seco)*. Quito.
- Kim, S., Peter, S., & Rhee, K. (1990). Fuctional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. *Agric food chem*, 38.
- Lahl, W., & Braun, S. (1994). enzymatic production of protein. *Journal of Food technology*, 68-71.
- Lara, A., Chaparro, S., Sandoval, A., Sosa, S. M., & Gil, J. (2015). Caracterización funcional de la almendra de las semillas de mango (*Mangifera indica* L). *Revista Ciencia en desarrollo*, 67-65.
- Martínez, E. (2015). Caracterización morfológica y contenido de almidón resistente y disponible en bananis. *Revista Española de nutrición humana y Dietetica*, 153-159.
- Martínez, J. J., Medina, O. J., & Zambrano, R. (2011). Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis* f). *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(1), 70-76.
- Mckee, T., & Mckee, J. (2014). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En *Bioquímica las bases moleculares de la vida* (pág. 110). México.
- Meyhuay, M. (2012). Quinua Operaciones de Poscosecha. *Instituto de Desarrollo Agroindustrial (INDDA)*, 11-12.

- Millán, F., & Vioque, J. (2010). Los hidrolizados proteicos en la alimentación: suplementos alimenticios de gran calidad funcional y nutricional. *Agroscic*, 6.
- Mufari, J., Cevilla, N., Guzmán, C., & Calandri, E. (2013). Comparación entre Precipitación Isoeléctrica y Ensayos Enzimáticos para la obtención de Concentrados Proteicos de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Estado del arte de la quinua en el mundo*, 8-12.
- Mukherjee, B. y. (1989). *American association of cereal chemists. Indice de solubilidad*.
- Munive, P. (2009). *Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano apartir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz*. Tesis Grado, Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Muñoz, L., Montero, C., & Montesdeoca, P. (2012). *Estacion experimental santa catalina productos andinos*. Quito.
- Nations, F. a. (2013). Distribucion y produccion de la quinua. *Quinua 2013 año internacional*, (pág. 2). Ibarra.
- Padrón, C., Oropeza, R., & Montes, A. (2015). Semillas de quinua *chenopodium quinoa willdenow*: composición química y procesamiento. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 166-218.
- Peinado, J., & Meléndez, F. (2010). Medida del pH: disoluciones reguladoras. precipitación isoelectrica de la caseína. *Bioquímica- Biología molecular*, 1, 1-2.
- Peralta, E. (2011). *La quinua en Ecuador "Estado del Arte"*. Quito- Ecuador.
- Peralta, E. L. (2011). *La quinua un gran alimento y su utilización*. Boletín divulgativo, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Cultivos andinos , Quito. Recuperado el 08 de 05 de 2013
- Peralta, E., & Mazón, N. (2014). La Quinua en Ecuador. En D. Bazile, D. Bertero, & C. Nieto, *Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013* (págs. 462-476). Santiago de Chile.

- Pinciroli, M. (2011). *Proteínas de arroz propiedades funcionales y estructurales*. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Prego, I., Maldonado, S., & Otegui, M. (1988). *Seed structure and localization of reserves in Chenopodium quinoa*.
- Proteins as Ingredients: Types, Functions, Applications. (1995). En J. Giese, *Food Technology* (Vol. 1, págs. 50-60).
- Quinto, Doyla; Córdor, Katty; Solano, Miguel; Silva, Clara. (2015). Extracción y caracterización del almidón de tres variedades de quinua (Chenopodium quinoa willd) Negra collana, Pasankalla roja y Blanca Junín. *Rev. Soc Quím Perú*, 44-58.
- Quirasco, B. M., & López, M. A. (2012). Enzimas. En D. S. Badui, *Química de los alimentos* (pág. 289). México: Cámara Nacional de la industria Mexicana.
- Revelo, A. (2010). *Desarrollo y evaluación de las tecnologías para la elaboración de un snack tipo laminado a partir de quinua*. Tesis de grado, Escuela Politecnica Nacional, Quito. Recuperado el 08 de 12 de 2014
- Ricardson, T., & Hyslop, D. (1985). *Enzymes in: Food Chemistry*. (O. F. Dekker, Ed.) New York.
- Rickey, Y. (2015). En Y. Rickey, *Improving and tailorig enzymes for food quality and functionality* (pág. 93). USA.
- Rivera, F. M. (2006). *Obtención, caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de una aislado proteico de quinua orgánica (Chenopodium quinoa willd)*. Tesis de pregrado, Universidad de Chile, Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Chile.
- Sánchez, B. (2010). *Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra dietética del fruto del Nispero (Eriobotrya japonica) y la cascara de mango Obo (Mangifera indica L)*. Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León Oaxaca.
- Sánchez, C. (2012). Quinoa Ecuador. *Revista Agro*, 10.

- Segura, M., López, G., Chel, L., & Betancur, D. (2010). Calidad nutrimental de un hidrolizado proteínico de *Phaseolus lunatus* y su incorporación en una crema de zanahoria. *Revista de la facultad de ingeniería química*, 9.
- Serpa, G. A., Hincapié, L. G., & Álvarez, L. C. (2014). Determinación del punto isoeléctrico de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta* Crantz) variedades verónica y tai, jatropha (*Jatropha curcas* L.) y gmelina (*Gmelina arborea*). *Grupo de Investigaciones Agroindustriales prospect*, 12(1), 30-39.
- Shimadzu, M. (1993). Amino acid analysis system. *Instruction manual*.
- Silva, M. J. (2006). *Obtención, caracterización y relación estructural-funcional de un aislado proteico de quinua (Chenopodium quinua) orgánica proveniente de la VI región de Chile*. Tesis de pregrado, Universidad de Chile, Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Chile.
- Tapia, M. (2010). *Quinua y Kañiwa* (Vol. 4). Bogota. Obtenido de http://coin.fao.org/coin-static/cms/media/16/13709776189580/potencial_ahrinas_de_quinua.pdf
- Toapanta, M. (2016). *Caracterización de aislados proteicos de quinua (Chenopodium quinoa Willd) y su digestibilidad gástrica y duodenal (in vitro)*. Proyecto de investigación, Universidad Técnica de Ambato, Ambato.
- Uvarova, M. L., & Arellano, D. B. (2010). Efecto de la lipofilización sobre las propiedades funcionales de la harina de palmiste (*Elaeis guineensis*). *Grasas y aceites*, 56, 4.
- Valenzuela, C., Abugoch, L., Tapia, C., & Gamboa, A. (2013). Effect of alkaline extraction on the structure of the protein of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and its influence on film formation. *International Journal of Food Science and Technology*, 843-849.
- Velásquez, L., Aredo, V., Caipo, Y., & Paredes, E. (2014). Optimización por diseños de mezclas de la aceptabilidad de una galleta enriquecida con

quinua (*Chenopodium quinoa*), soya (*Glycine max*) y cacao (*Theobroma cacao* L). *Agroindustrial Science*, 35-42.

Vicente, G. (2013). *Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de Chenopodium quinoa willd provenientes del noroeste de argentino*. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.

Villacrés, E. (2001). *Obtención de un hidrolizado enzimático de lata funcionalidad a partir del chocho (lupinus mutabilis Sweet)*. Tesis de Maestría, Escuela Politécnica Nacional, Departamento de ciencia de Alimentos y Biotecnología, Quito.

Villacrés, E., & Ruales, J. (2014). Obtainment and physical- chemical and functional characterization of a lupin (*lupinus mutabilis Sweet*) protein hydrolyzate. *International Journal of advanced Research*, 158-165.

Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2010). *Fundamentos de bioquímica: la vida a nivel molecular* (2 ed.). España: medica panamericana.

Zambrano, G. d. (2013). *Estudio técnico-económico para la obtención de alcohol a partir del camote (ipomoea batata)*. Tesis de grado, Universidad central del Ecuador, Quito.

Zapata, A. C. (2011). *Determinación de las propiedades físicas- químicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para la aplicación en alimentos*. tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional, Quito.

Zhun, H., & Damodaran, S. (2011). Heat- induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties. *Agric. Food chem*, 1, 41.

ANEXOS

MÉTODOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN

CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES (Anexo 1)

Determinación de Brix en la muestra. (Método Gallo, 1997), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del Iniap).

Se ha convenido llamar azúcares como sólidos solubles totales (S.S.T). Índice refractométrico (IR) o °Brix al porcentaje de materias secas solubles contenidas en la solución y medidas por refractometría.

a. Materiales y Equipos

- ★ Refractómetro con la escala de lectura graduada en 0,2 unidades.
- ★ Micro pipeta

b. Procedimiento

- ★ Filtrar la muestra de ser necesario, homogenización la solución y verter algunas gotas sobre el prisma del refractómetro, colocar el aparato enfrente de una fuente de luz.
- ★ La lectura se hace sobre la escala del ocular, en el punto de intersección de las zonas y oscuras.

CONTENIDO DE PROTEÍNA (Anexo 2, 5 y 12)

Determinación de proteína por macro Kjeldahl (Método A.O.A.C.1997) N°920.152, adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del Iniap).

a. Equipo

- ★ Balanza analítica
- ★ Aparato de digestión y destilación macro kjeldahl
- ★ Balones kjeldahl de 50 ml
- ★ Erlenmeyer de 250 ml
- ★ Titulador automático
- ★ Agitadores magnéticos

b. Reactivos

- ★ Ácido sulfúrico (grado técnico)
- ★ Hidróxido de sodio al 50% (grado técnico)
- ★ Ácido bórico al 4%
- ★ Zinc en gránulos
- ★ Agua desmineralizada
- ★ Indicador mixto para macro: Rojo de metilo al 01% y verde de bromocresol al 0,2% en alcohol de 95 %

c. Procedimiento

Digestión

- ★ Se pesa exactamente alrededor 0,04 g de muestra. Depositar en el balón de digestión y añadir 0,5 g de catalizador y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- ★ Colocar los balones en el digestor kjeldahl con los calentadores a máxima temperatura hasta q la solución adquiera una coloración verde, esto es indicativo de haberse eliminado toda la materia orgánica. Retirar los balones del digestor y enfriar.

Destilación

- ★ A los balones adicionar 25 ml de agua destilada, colocar la muestra en el destilador y añadir 10 ml de hidróxido de sodio al 50 % destilar recogiendo el destilado en 6 ml de ácido bórico al 4% hasta obtener 50 ml de volumen.

Titulación

- ★ El destilado se titula con ácido sulfúrico 0,3 N; empleado 2 gotas de indicador mixto, hasta que la fase solución cambie de color.
- ★ El gasto de ácido sulfúrico se tomó como dato para el cálculo de la proteína mediante la siguiente formula:

$$\% \text{NITRÓGENO} = \frac{(T-B) \times N \times 14,01}{W \times 10}$$

DONDE:

T= ml de ácido gastado

B= ml de ácido gastado en el balón blanco

N= normalidad del ácido

W= peso inicial de la muestra

$$\% \text{PROTEÍNA} = \% \text{N} \times 6,25$$

ÍNDICE DE REFRACCIÓN (Anexo 3 y 7)

Índice de Refracción, adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del Iniap).

Se ha convenido llamar azúcares como sólidos solubles totales (S.S.T). Índice refractométrico (IR) o ° Brix, al porcentaje de materias secas solubles contenidas en la solución y medidas por refractometría.

a. Materiales y Equipos

- ★ Equipo de índice de refracción
- ★ Micro pipeta

b. Procedimiento

- ★ Verter algunas gotas sobre el prisma del refractómetro, y luego se cierra con cuidado.
- ★ La lectura se hace sobre la escala del ocular, en el punto de intersección de las zonas y oscuras.

CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE ALMIDÓN (Anexo 4)

La determinación del almidón por el método polarimétrico es donde el almidón es tratado con una solución diluida de ácido clorhídrico en baño maría y luego se determina el ángulo de rotación de la luz de una solución clara en el polarímetro.

Equipo y material

- ★ Balones de 50ml
- ★ Embudos plásticos
- ★ Pipetas graduadas
- ★ Pizeta
- ★ Porta embudos
- ★ Tubos plásticos de 50ml
- ★ Gradilla
- ★ Centrifuga
- ★ Balanza analítica
- ★ Baño maría
- ★ Polarímetro de 200mm
- ★ Papel filtro cualitativo.

Reactivos

- ★ Ácido clorhídrico 0.31N
- ★ Ácido clorhídrico al 25%
- ★ Solución I: Ferrocianuro de potasio trihidratado al 15% en agua destilada.
- ★ Solución II: sulfato de zinc heptahidratado al 30% en agua destilada.

Procedimiento para muestra

- ★ Secar la muestra a 65°C y molerla, pesar 2,5 g en un balón aforado de 50 ml
- ★ Agregar 25 ml de ácido clorhídrico 0.31N y agitar por 15 minutos.
- ★ Llevar a baño de agua hirviente por 15 minutos con agitación continua.
Enfriar.
- ★ Adicionar 0.5 ml de solución I y 0.5 ml de solución II agitando el balón.
Aforar, centrifugar y filtrar.
- ★ De ser necesario repetir el paso anterior cuantas veces sea necesario hasta obtener una solución transparente y cristalina.
- ★ Llenar el tubo de 200 mm con el filtrado y leer en el polarímetro.

Para blanco

- ★ Pesar 5 g de muestra molida en balón de 50 ml.
- ★ Agregar 40 ml de agua destilada y agitar por 15 minutos.
- ★ Adicionar 1 ml de solución I y 1ml de solución II, agitar.
- ★ Aforar el balón con agua destilada, centrifugar en tubos y filtrar.
- ★ Tomar 25 ml del filtrado en un balón de 50 ml. Añadir 1 ml de ácido clorhídrico al 25% y llevar a baño de agua hirviendo por 15 minutos con agitación continua. Enfriar y aforar.
- ★ Si la solución esta turbia centrifugar y filtrar.
- ★ Llenar el tubo de 200mm con el filtrado y leer en el polarímetro.

CALCULOS

$$\% \text{ Almidón} = (a - b) f$$

Dónde: a = ángulo de rotación de la muestra en grados

b = ángulo de rotación del blanco en grados

f = factor del almidón

FACTOR DE ALMIDÓN

*Trigo	5.635	* Maíz	5.635	* Arroz	5.661
*Papás	5.501	*Yuca	5.551	*Amaranto	5.528
*Quinua	5.528	*Garbanzo	5.652	*Frejol blanco	5.662

GRADO DE HIDRÓLISIS (Anexo 6)

Grado de hidrólisis método de Kim et al (1990).

Se mide la proteína soluble de las muestras tratadas con ácido tricloroacético (TCA) al 10%. Se toma 10 ml del sobrenadante hidrolizado (proteína soluble) y será mezclado con 10 ml de TCA. Luego se centrifuga a 10000 rpm por 15 minutos en donde se observa la separación de sólido que es la proteína presente en el sobrenadante. La proteína soluble en el sobrenadante y la proteína total serán medidas por Kjeldalh.

$$\text{Grado de hidrólisis GH (\%)} = \frac{\text{proteína soluble con TCA al 10\%}}{\text{Proteína total}} \times 100$$

MÉTODOS UTILIZADOS PARA LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y NUTRICIONALES EVALUADAS EN EL HIDROLIZADO

ÍNDICE DE SOLUBILIDAD (Anexo 8)

Solubilidad de la proteína (Método de Bera y Mukherjee 1989).

Se preparan 2 suspensiones de la muestra (5 g de muestra en 50 ml de agua destilada- desionizada), se ajusta el pH de una suspensión a pH 4.5 y de la otra a un pH 7.0, usando HCl 0.1 M o Na (OH) 0.1 M. Agitar las suspensiones por 30 minutos a temperatura ambiente y centrifugar a 10.000 rpm por 15 minutos.

El contenido de proteína del sobrenadante, se determina por kjeldalh y el porcentaje de solubilidad de la proteína es calculado con la siguiente formula:

$$\text{Proteína Soluble(\%)} = \frac{\text{proteína en el sobrenadante (\%)}}{\text{proteína total de la muestra (\%)}} \times 100$$

ÍNDICE DE DISPERSIBILIDAD (Anexo 9)

Dispersibilidad de la proteína (Método AACC 46-23 1974).

Pesar 5g de muestra seca en un vaso de precipitación 400ml y medir 200ml de agua a 30°C. Añadir pequeña porción de agua a un tiempo y dispersar la muestra con una varilla de agitación, agitar la mezcla a 120 rpm con agitador mecánico por 120 min a 30°C, por inmersión del vaso de precipitación en un baño de agua, luego transferir la mezcla a un frasco volumétrico de 250ml y añadir una o dos gotas de antiespumante hasta mezclar el contenido del frasco totalmente.

Permitir que permanezca quieto por unos minutos y decantar 40 ml en un tubo de centrifuga de 50ml; centrifugar a 15000rpm por 10 min y decantar el sobrenadante a través de un embudo teniendo cuidado de no transferir nada sólido, reunir el filtrado y determinar proteína por kjeldalh.

El porcentaje de dispersibilidad de la proteína es calculado con la siguiente formula:

$$\text{Índice de dispersibilidad de la proteína (PDI)} = \frac{\text{proteína dispersible en agua (\%)}}{\text{proteína total de la muestra (\%)}} \times 100$$

CAPACIDAD ESPUMANTE (Anexo 10)

La capacidad de formación y la estabilidad de la espuma, se determinó siguiendo el método de (Chau, cheung, & whon, 1977), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad Iniap. El efecto de la concentración se evaluó en suspensiones de 2 % (p/v), ajustadas a pH 7.0, se determinó a los niveles 2, 4, 6, 8 y 10, sobre suspensiones al 2%.

Se preparó una suspensión de proteína para cada caso (50 ml), se mezcló en una licuadora a 2000 rpm por 5 min, se trasvasó a una probeta graduada y se registró el volumen de espuma después de 30 segundos, expresando el resultado como el incremento de volumen en porcentaje, según la siguiente fórmula:

$$IV(\%) = \frac{Vf - Vo(\%)}{Vo(\%)} \times 100$$

Donde:

IV % = Incremento en volumen

Vf = Volumen Final

Vo = Volumen inicial

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA Y ACEITE (Anexo 11)

Esta propiedad funcional capacidad de retención de agua y aceite, se determinó por el método de Nacz, (1985), adaptado por el departamento de Nutrición y calidad Iniap.

Las dispersiones usadas para las determinaciones de solubilidad de la proteína podrían ser usadas para obtener un estimado de la capacidad de retención de agua por pesada de los de los tubos de centrifuga antes y después de la centrifugación y eliminado el sobrenadante, el peso de los pellets hidratados fue calculado por diferencia y relacionado al peso de producto de dispersión. La capacidad de retención de agua será expresada como g de agua sostenida / g de producto. En un tubo de centrifuga de 50 ml, con tapa y tarado, se pesó 2g de muestra, se añadió 16 ml de agua destilada. Se tapó el tubo y se agito vigorosamente para suspender completamente la muestra. Se ajustó el pH de la suspensión a un valor de 7, se agitó en una placa magnética por 20 minutos y se centrifuga a 3000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante fue cuidadosamente removido, entonces él tuvo fue invertido y drenado por 10 minutos. Se tapó él tuvo y se pesó su contenido. El agua retenida fue calculada por la siguiente formula:

$$\text{Capacidad de retención de agua y aceite} = \frac{\text{peso de pellet hidratado} - \text{peso de muestra (b.s)}}{\text{peso de muestra (b.s)}}$$

b.s= base seca

DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA (Anexo 13)

Determinación de la digestibilidad de la proteína método multienzimático de (Hsu, 1977), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad Iniap.

Una forma de evaluar la calidad de la proteína es considerar el grado de digestibilidad de esta, por ellos se realiza un análisis por medio de un método in vitro. Este método de determinación de digestibilidad de la proteína se halla a través de la simulación de un proceso digestivo con enzimas de origen animal, como son: Tripsina, Chymotripsina y Peptidasa pancreática.

Reactivos y materiales

- ★ Suspensión de caseína: Casein sodium salt-from bovine milk (Sigma-Aldrich; C8654).
- ★ Tripsina: Porcine pancreatic trypsin, type IX (Sigma- Aldrich; T 0303) debe conservarse a -20°C.
- ★ Chymotripsina: Bovine pancreatic chymotrypsin, Type II (Sigma-Aldrich; C4129) debe conservarse a -20°C.
- ★ Peptidasa: Porcine intestinal peptidase (Sigma-Aldrich; P7500) debe conservarse a -20°C.
- ★ Tubos falcón: aprox. De 15 ml.
- ★ Baño maría: las muestras sumergidas en el baño deben ser mantenidas a una temperatura de 37°C.
- ★ Pipetas.
- ★ pH metro.

Preparación de muestras y soluciones

Todas las muestras usadas para el estudio de digestión in vitro son liofilizadas y molidas finamente.

Preparación de la solución de proteína (patrón caseína)

Se prepara la suspensión de proteína acuosa (caseína de sodio), a una concentración de 10 mg de nitrógeno y se 2.5 ml de agua 18 M, a esta suspensión se le ajusta el pH a 8.0 con 0.1N HCl y Na OH 0.1 N y se agita para obtener una homogeneidad. La suspensión de caseína se debe conservar refrigerada, pero debe estar a una temperatura ambiente para poder ser utilizada.

Preparación de la solución multienzimática

Se prepara una solución multienzimática de tripsina 2mg/ml, Chymotripsina 2.24 mg/ml y peptidasa 0.51 mg/ml.

Para preparar 25 ml de a solución multienzimática, se deben pesar las siguientes cantidades y enserar con agua 18 M.

0.056 g	Chymotripsina	2.24 mg/ml
0.0127g	Peptidasa	0.51 mg/ml
0.050g	Tripsina	2.00 mg/ml

La solución multienzimática se debe mantener en un baño de hielo y su preparación debe ser a diario y comprobar su actividad usando una suspensión acuosa de caseína de sodio.

PROCEDIMIENTO

Se toman muestras por triplicado y se determina la digestibilidad de la siguiente manera:

- ★ Se pesa en tubos Falcón, una cantidad de muestra que contenga 10mg de muestra (hidrolizado) y se disuelve en 2.5 ml de agua 18 M_.
- ★ Luego se procede a adicionar 2.5ml de Na (OH) al 0.2 N y se hace una incubación de la solución por un periodo de 30 minutos en un baño de agua con una temperatura de 37°C.
- ★ Después de transcurrido los 30 minutos, se agrega 5.0ml de HCl 0.075N a la solución.

- ★ Se ajusta el pH a 8.0
- ★ Se mantiene la solución con una temperatura de 37°C.
- ★ Una vez ajustado el pH y mantenida a temperatura 37°C, se agrega 2ml de la solución multienzimática a cada una de las muestras, en donde se presenta un rápido descenso del pH, el cual es causado por la liberación de los grupos carboxilos COOH presentes en la proteína debido a la acción de enzimas proteolíticas.
- ★ El descenso del pH se registra automáticamente después de un periodo de 10 minutos usando un medidor de pH.
- ★ Finalmente se calcula el valor de digestibilidad a este tiempo (10 minutos).

Cálculos

Para calcular el porcentaje de digestibilidad de proteína, se utiliza la siguiente ecuación:

$$Y= 210.46-X18.10$$

Y= digestibilidad in Vitro de la proteína

X= valor del pH después de 10 min de digestión con la solución multienzimática.

ANEXO 14

FICHA TÉCNICA DE LA ENZIMA PAPAÍNA

Tabla 1. Propiedades de la papaína y Flavourzima®

Enzima	Papaína	Flavourzima®
Número EC	3.4.22.2	3.4.1.2
Fuente	<i>Carica papaya</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
Actividad enzimática	3.18 UA ¹ /mg de enzima	500 LAPU ² /g de enzima
Tipo de acción	Endopeptidasa	Exopeptidasa
PH óptimo	4.5-7.0	5.0-7.0
Temperatura óptima	50-75°C	50-55°C
Amino ácidos específicos	Amplia	
Sitio activo	Cisteína 25	
Inhibidores	Agentes oxidantes, reactivos sulfhidrilo y metales pesados	
Inactivación enzimática	90°C, 10 min.	85°C, 5 min.
Activadores	Agentes reductores, compuestos tiol, EDTA.	



¹UA= Unidad Anson

²LAPU=Unidad leucina aminopeptidasa

Fuente: Obtención de un hidrolizado de alta funcionalidad a partir del chocho (villacrés, Master of science- M.Sc en ciencia de alimentos , 2001).

ANEXO 15

FICHA TÉCNICA DE LA ENZIMA DIASTASA

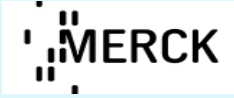
Descripción		
Número de catálogo	103604	
Información del producto		
Número de CAS	9000-90-2	
Número de índice CE	647-015-00-4	
Número CE	232-565-6	
Código HS	3507 90 90	
Información fisicoquímica		
Valor de pH	6.5 - 7.5 (10 g/l, H ₂ O, 20 °C)	
Densidad aparente	100 - 200 kg/m ³	
Solubilidad	10 g/l (20 °C)	
Información toxicológica		
DL 50 oral	DL50 Rata > 7500 mg/kg	
Información de seguridad según el GHS		
Pictogramas de peligro		
Declaraciones de peligro	H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.	



Consejos de precaución	P260: No respirar el polvo. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.
Palabra de señalización	Peligro
RTECS	BU7432500
Clase de almacenamiento	10 - 13 Otros líquidos y sustancias sólidas
WGK	WGK 1 contamina ligeramente el agua
Eliminación	Los reactivos orgánicos líquidos relativamente no reactivos desde el punto de vista químico se recogen en la categoría A. Si contienen halógenos se les asigna la categoría B. Residuos sólidos: categoría C.

Información de almacenamiento y transporte	
Almacenamiento	Almacenar entre +2°C y +8°C.
Información de transporte	
Declaración (vía férrea y carretera) ADR, RID	Kein Gefahrgut
Declaración (transporte aéreo) IATA-DGR	No Dangerous Good
Declaración (transporte marítimo) Código IMDG	No Dangerous Good

ANEXO 16

FICHA TÉCNICA DEL HIDRÓXIDO DE SODIO

Descripción	
	
Número de catálogo	106462
Replaces	SX0600-30; SX0600; SX0600-1
Sinónimos	Soda caustic, SX0600-30, SX0600
Información del producto	
Número de CAS	1310-73-2
Número de índice CE	011-002-00-6
Número CE	215-185-5
Fórmula Hill	HNaO
Fórmula química	NaOH
Molar Mass	40.00 g/mol
Código HS	2815 11 00
Aplicaciones	
Aplicación	Sodium hydroxide pellets pure. Sodium hydroxide CAS No. 1310-73-2, EC Number 215-185-5. Sodium hydroxide MSDS (material safety data sheet) or SDS here.
Información fisicoquímica	
Densidad	2.13 g/cm ³ (20 °C)
Punto de fusión	319 - 322 °C
Valor de pH	>14 (100 g/l, H ₂ O, 20 °C)

Información fisicoquímica	
Presión de vapor	(20 °C)
Solubilidad	1090 g/l (20 °C)
Información de seguridad según el GHS	
Pictogramas de peligro	
Declaraciones de peligro	H290: Puede ser corrosivo para los metales. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
Consejos de precaución	P280: Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P308 + P310: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.
Palabra de señalización	Peligro
RTECS	WB4900000
Clase de almacenamiento	8B Materiales corrosivos peligrosos, no combustibles
WGK	WGK 1 contamina ligeramente el agua
Eliminación	13 Las bases y alcoholatos, si es necesario, se diluyen introduciéndolas y agitando cuidadosamente en agua. Seguidamente se neutralizan con ácido clorhídrico (art. 100312) (guantes, campana extractora). Antes del vaciado en categoría D ó E, comprobar el valor del pH con tiras idicadoras universales (art. 109535).
Información de seguridad	
Símbolos de riesgo y peligrosidad	 Corrosive
Categorías de peligro	corrosivo


Información de seguridad	
Frase R	R 35 Provoca quemaduras graves.
Frase S	S 26-37/39-45 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Úsenle guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta).
Información de almacenamiento y transporte	
Almacenamiento	Almacenar entre +5°C y +30°C.
Información de transporte	
Declaración (vía férrea y carretera) ADR, RID	UN 1823 , 8, II
Declaración (transporte aéreo) IATA-DGR	UN 1823 , 8, II
Declaración (transporte marítimo) Código IMDG	UN 1823 , 8, II, Segregation Group: 18 (Alkalis)


ANEXO 17

FICHA TÉCNICA DEL ÁCIDO CLORHÍDRICO FUMANTE AL 37%

Descripción	
Número de catálogo	100317
Sinónimos	Hydrogen chloride solution
Información del producto	
Grado	ACS,ISO,Reag. Ph Eur

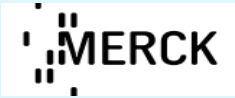
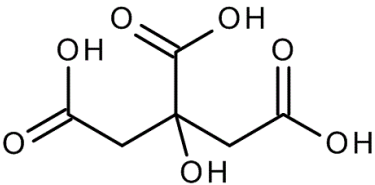



Información del producto	
Código HS	2806 10 00
Información fisicoquímica	
Punto de ebullición	45 °C
Densidad	1.19 g/cm ³ (20 °C)
Punto de fusión	-28 °C
Valor de pH	< - 1 (H ₂ O, 20 °C)
Presión de vapor	190 hPa (20 °C)
Solubilidad	(20 °C) soluble
Información de seguridad según el GHS	
Pictogramas de peligro	
Declaraciones de peligro	H290: Puede ser corrosivo para los metales. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H335: Puede irritar las vías respiratorias.
Consejos de precaución	P280: Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P308 + P310: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.
Palabra de señalización	Peligro
Clase de almacenamiento	8B Materiales corrosivos peligrosos, no combustibles
WGK	WGK 1 contamina ligeramente el agua

Información de seguridad según el GHS	
Eliminación	12 Los ácidos inorgánicos y sus anhídridos, según el caso, se diluyen o respectivamente se hidrolizan previamente, añadiéndolos bajo agitación, cuidadosamente, en agua con hielo. Seguidamente se neutraliza con solución de hidróxido sódico (art. 105587) (guantes, campana extractora). Antes del vertido en la categoría D controlar el valor del pH con tiras indicadoras universales (art. 109535). El ácido sulfúrico fumante (óleum) se gotea cuidadosamente en ácido sulfúrico al 40 % (art. 109286), bajo buena agitación. Tener siempre cantidades suficientes de hielo a mano a efectos de refrigeración exterior. Después de enfriar, el ácido sulfúrico altamente concentrado obtenido se somete, como se indica arriba, a su tratamiento ulterior. Análogamente al ácido sulfúrico fumante (óleum)/ácido sulfúrico pueden gotearse otros anhídridos en sus correspondientes ácidos. Los gases ácidos (p. ej. halogenuros de hidrógeno, cloro, fosgeno, dióxido de azufre) se pueden pasar por una solución de sosa cáustica diluida y después de la neutralización se eliminan en la categoría D.
Información de seguridad	
Símbolos de riesgo y peligrosidad	 Corrosive
Categorías de peligro	corrosivo
Frase R	R 34-37 Provoca quemaduras. Irrita las vías respiratorias.
Frase S	S 26-36/37/39-45 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).
Información de almacenamiento y transporte	
Almacenamiento	Almacenar entre +2°C y +25°C.
Información de transporte	
Declaración (vía férrea y carretera) ADR, RID	UN 1789 , 8, II
Declaración (transporte aéreo) IATA-DGR	UN 1789 , 8, II

Información de transporte	
Declaración (transporte marítimo) Código IMDG	UN 1789 , 8, II, Segregation Group: 1 (Acids)

ANEXO 18 FICHA TÉCNICA DEL ÁCIDO CITRICO

Información del producto	
	
Fórmula química	$(\text{HOOCCH}_2)_2\text{C}(\text{OH})\text{COOH}$
Molar Mass	192.12 g/mol
Código HS	2918 14 00
Imagen fórmula estructural	
Información fisicoquímica	
Punto de ebullición	200 °C (1013 hPa) (descomposición)
Densidad	1.665 g/cm ³ (18 °C)
Punto de fusión	153 °C (descomposición)
Valor de pH	1.7 (100 g/l, H ₂ O, 20 °C)
Presión de vapor	< - 0.1 hPa (20 °C)
Densidad aparente	560 kg/m ³
Solubilidad	1330 g/l (20 °C)

Información de seguridad según el GHS	
Pictogramas de peligro	
Declaraciones de peligro	H319: Provoca irritación ocular grave.
Consejos de precaución	P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
Palabra de señalización	Atención
Información de seguridad	
Símbolos de riesgo y peligrosidad	 Irritant
Categorías de peligro	irritante
Frase R	R 36 Irrita los ojos.
Frase S	S 26 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

Información de almacenamiento y transporte	
Almacenamiento	Almacenar entre +5°C y +30°C.

ANEXO 19

Concentraciones de ácido cítrico, ácido clorhídrico (HCl) e Hidróxido de sodio (NaOH 1N) utilizadas para la obtención de un aislado por precipitación isoeléctrica

Solubilización alcalina de la proteína con NaOH 1N	Precipitación de la proteína a pH 4,5 con ácido cítrico	Precipitación de la proteína a pH 4,5 con HCl
pH 8: 6,5ml	4,056 g	5,4 ml
pH 9: 8,5ml	6,202 g	6,7 ml
pH 10: 9,5 ml	7,151 g	7,9 ml

ANEXO 20

Contenido de sólidos solubles en el sobrenadante en la etapa de solubilización alcalina con Na (OH) 1N, para la obtención de un aislado proteico

° BRIX			
REPETICIONES			
Tratamientos	I	II	III
TB1	3,8	4	4
TB2	3,6	3,5	3,8
TB3	3,6	4	3,8
TB4	3,8	3,9	4
TB5	3,8	4	3,9
TB6	3,6	4	3,9

ANEXO 21

° Brix en el jarabe por medio de la hidrólisis del almidón de quinua, para la obtención de un aislado proteico por vía enzimática.

° BRIX EN LA HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN DE QUINUA								
Tiempo	TRATAMIENTOS							
	TE1	TE2	TE3	TE4	TE5	T56	TE7	TE8
0	4,5	4,4	4,5	4,3	4,4	4,5	4,4	4,3
1	7,9	8,6	6,8	6,5	6,5	6,6	6,2	7,5
2	8,6	9,6	8	7,7	7,5	7,3	6,8	8,3
3	9,3	10,2	8,6	8,5	8	7,6	7,2	8,6
4	9,8	10,8	9	8,9	8,4	8	7,6	9
5	10,2	11,4	9,4	9,5	8,6	8,4	8	9,5
6	10,75	11,9	9,6	10	9	8,8	8,4	9,9
7	11,75	12,8	9,8	10,5	9,6	9,4	9	10,2
8	12,6	13,5	10,2	10,9	9,9	9,8	9,6	10,6

ANEXO 22

Contenido de almidón en el aislado proteico por vía enzimática

Datos de Muestra (a) ángulo de rotación de la muestra en grados

Muestra (a)			
TRATAMIENTOS	I	II	III
TE1	0,70	0,60	0,90
TE2	0,90	1,11	1,10
TE3	0,85	0,95	0,70
TE4	1,00	0,90	1,20
TE5	1,55	1,00	1,50
TE6	1,50	1,25	1,10
TE7	2,00	1,75	1,65
TE8	1,75	1,85	1,30

Datos de muestra (b) ángulo de rotación del blanco en grados

Muestra (b)			
TRATAMIENTOS	I	II	III
TE1	0,50	0,70	0,70
TE2	0,10	0,05	0,50
TE3	0,10	0,45	0,05
TE4	0,20	0,20	0,60
TE5	0,73	0,65	0,35
TE6	0,30	0,45	0,10
TE7	0,10	0,20	0,15
TE8	0,20	0,10	0,20

Calculo

Factor del almidón de quinua: $f = (5.528)$

% Almidón = $(a - b) f$

% Almidón = $0,70 - (0,50) \times 5,528$

% Almidón = $1,11\%$

ANEXO 23

Calculo del grado de hidrólisis en el hidrolizado proteico de quinua

Proteína soluble en el sobrenadante

PROTEINA SOLUBLE			
TRATAMIENTOS	I	II	III
TH1	7,50	10,05	7,25
TH2	7,25	9,25	9,00
TH3	8,50	8,00	7,40
TH4	8,25	9,20	8,50
TH5	3,25	8,00	8,11
TH6	9,75	9,00	8,25
TH7	5,60	6,75	7,00
TH8	8,00	8,46	9,25

Proteína total del asilado hidrolizado

PROTEINA TOTAL			
TRATAMIENTOS	I	II	III
T1	61,09	64,58	64,11
T2	67,14	62,29	69,19
T3	67,44	59,02	57,18
T4	57,13	59,53	57,34
T5	54,89	53,22	53,97
T6	66,00	63,27	66,67
T7	53,55	53,56	53,78
T8	65,23	62,2	66,25

Calculo del grado de hidrólisis

$$\text{Grado de hidrólisis GH (\%)} = \frac{\text{proteína soluble con TCA al 10\%}}{\text{Proteína total}} \times 100$$

$$\text{Grado de hidrólisis GH (\%)} = \frac{7,50}{61,09} \times 100$$

$$\text{grado de hidrólisis GH} = 12,27\%$$

ANEXO 24

Calculo de la capacidad de retención de agua y aceite ene l hidrolizado proteico de quinua.

Datos para capacidad de retención de aceite

Peso de tubo + tapa = 13,234 g

Peso de muestra = 2g de proteína hidrolizada

Peso de pellet hidratado = 16,339 g

Peso de pellet hidratado final = 3,105g

(b.s)= base seca.

$$\text{Capacidad de retención de aceite} = \frac{\text{peso de pellet hidratado} - \text{peso de muestra (b. s)}}{\text{peso de muestra (b. s)}}$$

$$\text{Capacidad de retención de aceite} = \frac{3,105 \frac{\text{g aceite}}{\text{g proteína}} - 2\text{g } \cancel{\text{proteína}}(\text{b. s})}{2 \text{ g } \cancel{\text{proteína}}(\text{b. s})}$$

Capacidad de retención de aceite =0,56 g aceite/ g proteína

Datos para capacidad de retención de agua

Peso de tubo + tapa = 13,234 g

Peso de muestra = 2g de proteína hidrolizada

Peso de pellet hidratado = 15,897 g

Peso de pellet hidratado final = 2,65g

(b.s)= base seca.

$$\text{Capacidad de retención de aceite} = \frac{\text{peso de pellet hidratado} - \text{peso de muestra (b. s)}}{\text{peso de muestra (b. s)}}$$

$$\text{Capacidad de retención de agua} = \frac{2,65 \frac{\text{g agua}}{\text{g proteína}} - 2 \text{ g proteína (b. s)}}{2 \text{ g proteína (b. s)}}$$

Capacidad de retención de aceite = 0,33 g agua/ g proteína

ANEXO 25

Capacidad espumante en el hidrolizado proteico de quinua

Calculo:

Formula de capacidad espumante

		$IV\% = \frac{V_f - V_o}{V_o} \times 100$	
pH 2		$IV\% = \frac{(62-40) ml}{40 ml} \times 100$	
		$IV\% = 55\%$	
pH 4		$IV\% = \frac{(70-40) ml}{40 ml} \times 100$	

pH 10		$IV\% = \frac{(90-40) ml}{40 ml} \times 100$	
		$IV\% = 125\%$	

		$IV\% = 75\%$	
pH 6		$IV\% = \frac{(76-40) ml}{40 ml} \times 100$	
		$IV\% = 90\%$	
pH 8		$IV\% = \frac{(83-40) ml}{40 ml} \times 100$	
		$IV\% = 108\%$	

ANEXO 26

Calculo de solubilidad, dispersibilidad y digestibilidad de la proteína hidrolizada de quinua.

SOLUBILIDAD

$$\text{Proteína Soluble}(\%) = \frac{\text{proteína en el sobrenadante } (\%)}{\text{proteína total de la muestra } (\%)} \times 100$$

$$\text{Proteína Soluble}(\%) = \frac{62,661(\%)}{73,41 (\%)} \times 100$$

$$\text{Proteína Soluble} = 85,35 \%$$

DISPERSIBILIDAD

$$\text{Índice de dispersibilidad de la proteína(PDI)} = \frac{\text{proteína dispersible en agua } (\%)}{\text{proteína total de la muestra } (\%)} \times 100$$

$$\text{Índice de dispersibilidad de la proteína(PDI)} = \frac{61,45(\%)}{73,41 (\%)} \times 100$$

$$\text{Índice de dispersibilidad de la proteína(PDI)} = 83,71\%$$

DIGESTIBILIDAD

Digestibilidad de la proteína hidrolizada de quinua.

$$Y = 210,46 - x \cdot 18,10$$

Y= digestibilidad in vitro de la proteína.

X= valor del pH después de 10 minutos de digestión con la solución multienzimática.

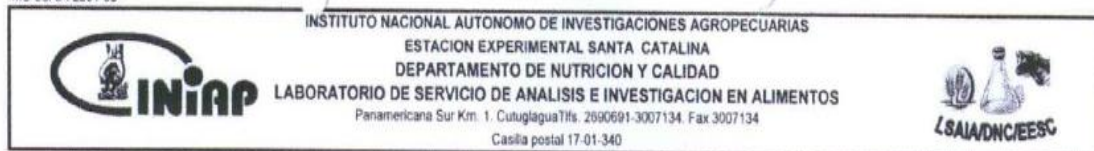
Calculo digestibilidad de la proteína hidrolizada

$Y = 210,46 - x \cdot 18,10$	
$Y = 210,46 - (6,78) \cdot 18,10$	
$Y = 87,75\%$	

ANEXO 27

Proteína en el aislado por precipitación isoelectrica

MC-LSAIA-2201-03



INFORME DE ENSAYO No: 14-300

NOMBRE PETICIONARIO:	Ina. Elena Villacrés	INSTITUCION:	INIAP EESC
DIRECCION:	Panamericana Sur Km 1	ATENCION:	Ing. Maria Belén Quelal
FECHA DE EMISION:	08 de noviembre del 2014	FECHA DE RECEPCION.:	07 de noviembre del 2014
FECHA DE ANALISIS:	Del 20 de noviembre al 05 de diciembre del 2014	HORA DE RECEPCION:	11:20
		ANALISIS SOLICITADO	Proteína

ANÁLISIS	HUMEDAD	PROTEÍNA ¹					IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.04					
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970					
UNIDAD	%	%					
14-1970	3,36	61,09					Proteína aislada por vía isoelectrica T1R1
14-1971	3,51	64,58					Proteína aislada por vía isoelectrica T1R2
14-1972	4,40	64,11					Proteína aislada por vía isoelectrica T1R3
14-1973	2,37	67,14					Proteína aislada por vía isoelectrica T2R1
14-1974	1,72	62,29					Proteína aislada por vía isoelectrica T2R2
14-1975	2,11	69,19					Proteína aislada por vía isoelectrica T2R3
14-1976	1,22	67,44					Proteína aislada por vía isoelectrica T3R1
14-1977	2,33	59,02					Proteína aislada por vía isoelectrica T3R2
14-1978	1,13	57,18					Proteína aislada por vía isoelectrica T3R3
14-1979	1,94	57,13					Proteína aislada por vía isoelectrica T4R1
14-1980	1,75	59,53					Proteína aislada por vía isoelectrica T4R2
14-1981	2,04	57,34					Proteína aislada por vía isoelectrica T4R3
14-1982	0,36	54,89					Proteína aislada por vía isoelectrica T5R1
14-1983	0,30	53,22					Proteína aislada por vía isoelectrica T5R2
14-1984	0,36	53,97					Proteína aislada por vía isoelectrica T5R3
14-1985	0,29	66,00					Proteína aislada por vía isoelectrica T6R1
14-1986	0,19	63,27					Proteína aislada por vía isoelectrica T6R2
14-1987	0,68	66,67					Proteína aislada por vía isoelectrica T6R3

Los ensayos marcados con Ω se reportan en |
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el client

RESPONSABLES DEL INFORME

Dr. Armando Rubio	Dr. Iván Samaniego, MSc.
RESPONSABLE DE CALIDAD	RESPONSABLE TECNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de esto se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

ANEXO 29

Proteína soluble en el hidrolizado proteico de quinua para el determinar el grado de hidrólisis.

MC-LSAIA-2201-03

	INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1 Cutuglagua Tifs. 2890891-3007134 Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340	
---	--	---


INFORME DE ENSAYO No: 15-0115

NOMBRE PETICIONARIO: Ing. Elena Villacrés	INSTITUCION: INIAP-DNC	
DIRECCION: Panamericana Sur Km 1	ATENCION: Ing. Elena Villacrés	
FECHA DE EMISION: 06/05/2015	FECHA DE RECEPCION.: 23/04/2015	
FECHA DE ANALISIS: Del 24 al 30 de abril de 2015	HORA DE RECEPCION: 09H00	
	ANALISIS SOLICITADO: Proteína	

ANALISIS	PROTEINA				IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.04				
METODO REF.	U. FLORIDA 1970				
UNIDAD	%				
15-0489	7.50				Proteína Soluble T1R1
15-0490	7.25				Proteína Soluble T1R2
15-0491	7.25				Proteína Soluble T2R1
15-0492	9.25				Proteína Soluble T2R2
15-0493	8.50				Proteína Soluble T3R1
15-0494	8.00				Proteína Soluble T3R2
15-0495	8.25				Proteína Soluble T4R1
15-0496	9.20				Proteína Soluble T4R2
15-0497	3.25				Proteína Soluble T5R1
15-0498	8.11				Proteína Soluble T5R2
15-0499	9.75				Proteína Soluble T6R1
15-0500	9.00				Proteína Soluble T6R2
15-0501	5.60				Proteína Soluble T7R1
15-0502	6.75				Proteína Soluble T7R2
15-0503	8.00				Proteína Soluble T8R1
15-0504	9.25				Proteína Soluble T8R2

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente


Dr. Armando Rubio
 RESPONSABLE DE CALIDAD

RESPONSABLES DEL INFORME




Dr. Iván Samaniego, MSc.
 RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo.

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibida. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

ANEXO 30

Proteína total en el hidrolizado proteico de quinua para determinar el grado de hidrólisis

MC-LSAIA-2201-03

	INSTITUCIÓN NACIONAL AUTÓNOMA DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlfs: 2690991-3007134 Fax: 3007134 Casilla postal 17-01-340	
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 15-0115

NOMBRE PETICIONARIO: Ing. Elena Villacrés DIRECCION: Panamericana Sur Km 1 FECHA DE EMISION: 06/05/2015 FECHA DE ANALISIS: Del 24 al 30 de abril de 2015	INSTITUCION: ATENCION: FECHA DE RECEPCION.: 23/04/2015 HORA DE RECEPCION: 09H00 ANALISIS SOLICITADO	INIAP-DNC Ing. Elena Villacrés 23/04/2015 09H00 Proteína
---	--	---

ANÁLISIS	PROTEÍNA Q	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.04	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	
16-0505	61,09	Proteína Total T1 R1
16-0506	64,58	Proteína Total T1R2
16-0507	67,14	Proteína Total T2R1
16-0508	62,29	Proteína Total T2R2
16-0509	67,44	Proteína Total T3R1
16-0600	59,02	Proteína Total T3R2
16-0601	57,13	Proteína Total T4R1
16-0602	59,53	Proteína Total T4R2
16-0603	54,89	Proteína Total T5R1
16-0604	53,22	Proteína Total T5R2
16-0605	66,00	Proteína Total T6R1
16-0606	63,27	Proteína Total T6R2
16-0607	53,55	Proteína Total T7R1
16-0608	53,56	Proteína Total T7R2
16-0609	65,23	Proteína Total T8R1
16-0700	62,20	Proteína Total T8R2

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente


Dr. Armando Rubio
RESPONSABLE DE CALIDAD

RESPONSABLES DEL INFORME




Dr. Ivan Samaniego, MSc.
RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio

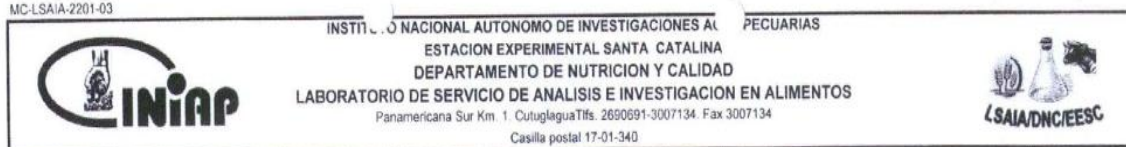
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

ANEXO 31

Solubilidad y dispersibilidad de la proteína en el hidrolizado proteico de quinua.

MC-LSAIA-2201-03



INFORME DE ENSAYO No: 15-097

NOMBRE PETICIONARIO:	Ing. Elena Villacrés	INSTITUCION:	DNC INIAP
DIRECCION:	Panamericana Sur Km 1	ATENCION:	Ing. María Belén Quejal
FECHA DE EMISION:	03/07/2015	FECHA DE RECEPCION.:	09/06/2015
FECHA DE ANALISIS:	Del 10 al 20 de Junio del 2015	HORA DE RECEPCION:	15:17:00
		ANALISIS SOLICITADO	Proteína

ANALISIS	HUMEDAD	PROTEÍNA					IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.04					
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970					
UNIDAD	%	%					
16-0710	2.03	62.661					Solubilidad de la proteína hidrolizada
16-0711	2.00	61.45					Dispersibilidad de la proteína hidrolizada

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente


Dr. Armando Rubio
RESPONSABLE DE CALIDAD




Dr. Iván Samaniego, MSc.
RESPONSABLE TÉCNICO

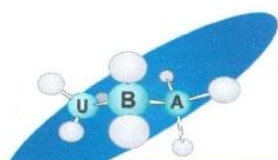
Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información

ANEXO 32

Perfil de aminoácidos en el hidrolizado proteico de quinua.



**Analytical
Laboratories**
Testing & Consulting

WWW.UBA-LAB.COM

INFORME DE RESULTADOS IDR 9829-2015

Fecha: 03 de Julio del 2015

DATOS DEL CLIENTE

Nombre	NAZATE FRAGA KARINA FERNANDA
Dirección	Ibarra , barrio la Victoria, calle: Av. Aurelio Espinosa 4-39 y Jorge Guzmán Rueda
Teléfono	09-93790654
Contacto	Srta. Karina Nazarte Fraga

DATOS DE LA MUESTRA

Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada de Quinoa	Cantidad	Aprox. 300 g
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	N/A
Presentación	Funda plástica transparente	Fecha de recepción	24 de Junio del 2015
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N.A.

CONDICIONES DEL ANALISIS

Temperatura (°C)	25.8	Humedad (%)	2.00
Fecha de Inicio de Análisis	26 de Junio del 2015		
Fecha de Finalización del análisis	27 de Junio del 2015		

RESULTADOS

PERFIL DE AMINOACIDOS

CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	MÉTODO	RESULTADOS	Unidad	Limite Detección
Proteína Hidrolizada de Quinoa	UBA-9829-1	Acido Apártico	Burbach, Rudolph Institute	6.27	gAA/100g	2.00 ppb
		Cistina		+		
		Acido Glutámico		12.75		
		Serina		5.45		
		Histidina		4.28		
		Treonina		3.863		
		Triptófano		+		
		Prolina		0.25		
		Glicina		4.69		
		Arginina		7.25		
		Alanina		4.23		
		Tirosina		2.85		
		Valina		3.93		
		Metionina		1.82		
		Fenilalanina		3.85		
		Isoleucina		3.45		
		Leucina		6.25		
Lisina	4.25					
Proteína verdadera (%)	73.41					

Observaciones:

- Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.
- Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.
- Nomenclatura: N.E. = No Estimado; N.A. = No aplica; AA = Aminoácidos.

FOR ADM. 04 R01

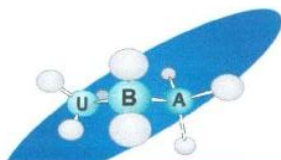
Página 1 de 1

Nelson Montoya V., M. Sc.
Gerente General & Técnico

Av. Carlos L. Plaza Danin, Cda. La FAE, Mz 20 Solar 12 (Frente al primer bloque de la Atarazana)
PBX: 2288578, 2397185, 2287195 Cel.: 0984780671
e.mail: nmontoya@uba-lab.com
nmontoya@gmail.com
Guayaquil-ECUADOR

ANEXO 33

Composición química del hidrolizado proteico de quinua.



**Analytical
Laboratories**
Testing & Consulting

WWW.UBA-LAB.COM

INFORME DE RESULTADOS IDR 9829-2015

DATOS DEL CLIENTE					
Nombre	NAZATE FRAGA KARINA FERNANDA				
Dirección	Ibarra , barrio la Victoria, calle: Av. Aurelio Espinosa 4-39 y Jorge Guzmán Rueda				
Teléfono	09-93790654				
Contacto	Srta. Karina Nazarte Fraga				
DATOS DE LA MUESTRA					
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada de	Cantidad	Aprox. 300 g		
No. de muestras	1	Lote	N/A		
Presentación	Funda plástica	Fecha de recepción	24 de Junio del 2015		
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N.A.		
CONDICIONES DEL ANALISIS					
Temperatura (°C)	25.8	Humedad (%)	2.00		
Fecha de Inicio de Análisis	26 de Junio del 2015				
Fecha de Finalización del análisis	27 de Junio del 2015				
RESULTADOS					
COMPOSICIÓN QUÍMICA					
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	MÉTODO	RESULTADOS	Unidad
Proteína Hidrolizada de Quinua	UBA-9829-3	Extracto Etéreo	AOAC 920.85	0,02	g/100g
		Fibra Cruda	AOAC 962.09	0,015	
		Cenizas	POE-UBA-03 Basado en : la determinación gravimétrica del residuo AOAC 17th 942.05	0,40	
		Proteína verdadera (%)	POE-UB-01 Basado en : AOAC 17th 984,13 (N. Kjeldahl x 6,25)	73.41	
Observaciones:					
1. Los resultados emitidos en este informe. corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.					
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente. excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.					
3. Nomenclatura: N.E. = No Estimado; N.A. = No aplica; AA = Aminoácidos.					

FOR ADM. 04 R01

Página 1 de 1

Nelson Montoya V., M. Sc.
Gerente General & Técnico

Av. Carlos L. Plaza Dañin, Cdl. La FAE, Mz 20 Solar 12 (Frente al primer bloque de la Atarazana)
PBX: 2288578, 2397185, 2287195 Cel.: 0984780671
e.mail: nmontoya@uba-lab.com
nmontoya@gmail.com
Guayaquil-ECUADOR

ANEXO 34

Composición química del residuo hidrolizado



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	056-2016
Análisis solicitado por:	Srta. Karina Nazate
Empresa:	Particular
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	26 de abril de 2016
Fecha de entrega informe:	04 de mayo de 2016
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura
No. de Lote	No aplica
No. Unidades Analizadas	1

#	Muestra	Codificación o # de Lote
1	Residuo del hidrolizado de quinua	No aplica

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado	Metodo de ensayo
Contenido de Humedad	%	9,26	AOAC 925.10
Cenizas	%	1,21	AOAC 923.03
Proteína Total	%	26,37	AOAC 920.87
Extracto etéreo	%	0,12	AOAC 920.85
Fibra Bruta	%	0,30	AOAC 978.10

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:

Bloq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio








Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av. 17 de Julio S-21 y José María
Córdova Barrio El Olivo
Teléfono: (06)2997800
Fax: Ext. 7711
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador

ANEXO 35

Fotografías del aislado proteico por precipitación isoelectrica

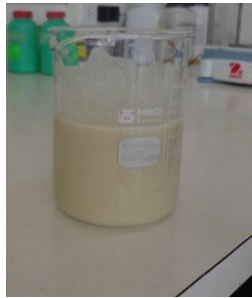
<p>suspensión acuosa harina/ agua</p> 	<p>Solubilización alcalina</p> 
<p>Centrifugación</p> 	<p>Precipitación isoelectrica</p> 
<p>Centrifugación</p> 	<p>Liofilización</p> 

Aislado proteico por precipitación isoeléctrica



Fotografías del aislado proteico por vía enzimática

suspensión acuosa harina/ agua



Hidrólisis



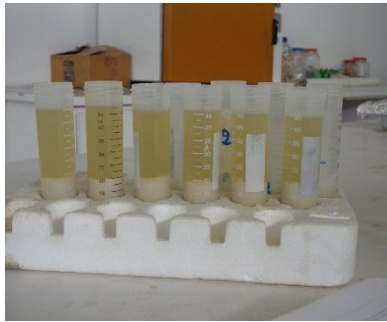
Degradación del almidón



Medición de °Brix



Centrifugación



Liofilización



Aislado proteico por vía enzimática



Fotografías del hidrolizado proteico

suspensión acuosa aislado/ agua



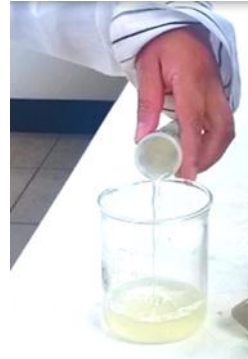
Hidrólisis



Medición del índice de refracción



Centrifugación



Congelación



Liofilización



Hidrolizado proteico