



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

AUTOR: Nazate Fraga Fernanda Karina

DIRECTOR: Ing. Jimmy Cuarán

Comité Lector:

- Ing. Iván Vaca
- Dra. Lucía Toromoreno
- Ing. Luis Armando Manosalvas

Ibarra, 2016.

Lugar de la Investigación: Machachi, Parroquia Cutuglagua, se realizó en los laboratorios de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina (INIAP).

Beneficiarios: A personas de tercera edad, nutrición hospitalaria, colaciones para niños y en general como base para la elaboración de productos alimenticios orientados a regímenes especiales.



HOJA DE VIDA DEL INVESTIGADOR

APELLIDOS: Nazate Fraga

NOMBRES: Fernanda Karina

C. CIUDADANIA: 0401682489

EDAD: 26 años.

NACIONALIDAD: Ecuatoriana

ESTADO CIVIL: Soltera

TELÉFONO CONVENCIONAL: 062220214

TELEFONO CELULAR: 0993790654

CORREO ELECTRÓNICO: chiquitakary1889@hotmail.com

DIRECCIÓN: Imbabura – Ibarra – El Sagrario Av.
Espinoza Polit y Jorge Guzmán

AÑO: 2016

Registro Bibliográfico

Nazate Fraga Fernanda Karina **OBTENCIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE QUINUA *Chenopodium quinoa willd* A PARTIR DE UN AISLADO PROTEICO** TRABAJO DE GRADO. Ingeniera Agroindustrial. Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Agroindustrial. Ibarra. EC. Julio. 2016. 119p.

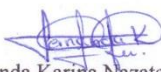
DIRECTOR: Ing. Jimmy Cuarán

El hidrolizado proteico alcanzó un contenido de proteína de 73,41%, partiendo de un aislado proteico de 66,21% de contenido de proteína, el mismo que se obtuvo mediante precipitación isoeléctrica, logrando un hidrolizado de quinua soluble, funcional, proteico, permitiendo su potencial como ingrediente en la formulación de alimentos para el consumo humano.

En la evaluación sus propiedades funcionales y nutricionales el hidrolizado proteico de quinua presentó un índice de dispersibilidad de 83,71%, solubilidad de la proteína de 85,35%, capacidad espumante de 125% de volumen, 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.

Julio 2016


Ing. Jimmy Cuarán
f) DIRECTOR DE TESIS


Fernanda Karina Nazate Fraga
f) AUTORA

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

Autor: Fernanda Karina Nazate Fraga

Coautor: Ing. Jimmy Cuarán

1 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.

En 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% de volumen a pH 10, 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

2 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

características deseables a un alimento.

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.

PALABRAS CLAVES

Ionización, enlaces peptídicos, punto isoeléctrico, desnaturalización, alcalinidad.

KEYWORDS

Ionization, peptide bonds, isoelectric point, denaturation, alkalinity.

3 Introducción.

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). 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 rico en 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 (Revelo, 2010).

Hoy en día el aprovechamiento de materiales ricos en proteína están siendo utilizados en la elaboración de concentrados, aislados e hidrolizados cuyas aplicaciones principales son en la alimentación humana. Además la introducción dentro de la dieta de hidrolizados enzimáticos ricos en oligopéptidos, especialmente di- y tripéptidos, representan una manera de mejorar la utilización de la proteína. Estas preparaciones han sido usadas en varios países como suplementación dietética o necesidades fisiológicas, para personas de la tercera edad, bebés prematuros, atletas que controlan el peso a través de dietas. Estas fuentes proteicas Son muy utilizadas debido a que proporcionan aminoácidos esenciales, que permiten una mayor asimilación y aprovechamiento de las proteínas ingeridas, la misma que es absorbida por el organismo después de la digestión en comparación con la proteína intacta sin hidrolizar (Parras, 2009).

4 Materiales y métodos

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

Enzimas comerciales: endopeptidasa papaína, chymotripsina, peptidasa, tripsina y demás reactivos, equipos fueron suministrados por la ingeniera Villacrés investigadora principal en INIAP.

4.1 Evaluación de dos métodos para la obtención de aislado proteico.

Para la obtención de un aislado proteico, se aplicó los métodos de precipitación isoeléctrica y método enzimático, que a continuación se detalla las metodologías utilizadas.

Obtención de harina desengrasada de quinua.

Los granos de quinua fueron sometidos a una clasificación y limpieza, luego un escarificado para eliminar la saponina presente en el grano, secado durante 8 horas a 75°C finalizado su proceso se procedió a la molienda en un molino, se realizó un tamizado para separar la fibra de la harina y por último para desengrasar la harina es sometida con solvente hexano a 24 horas para extraer

el aceite de quinua y así obtener harina desengrasada para su siguiente proceso.

4.1.1 Obtención del aislado proteico por precipitación isoeléctrico.

Solubilización alcalina. Para la extracción de la proteína de quinua se preparó una suspensión de harina y agua con relación 1:10 p/v, la suspensión acuosa fue regulada con Na (OH) 1N a pH a 8, 9, 10 por un tiempo de 1 a 2 horas con uso del agitador magnético para homogenizar dicha mezcla, finalizado su proceso de agitación, 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 isoeléctrica. La precipitación de la proteína, se realizó en los sobrenadantes obtenidos en 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. Una vez rescató el precipitado, se realizó dos lavados con agua destilada con la finalidad de obtener una proteína más

pura y libre de sustancias ácidas, se congeló 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.

VARIABLES EVALUADAS EN EL AISLADO POR PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA.

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.

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

Ecuación 1 Rendimiento del aislado proteico por precipitación isoeléctrica.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100$$

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.

4.1.2. Obtención del aislado proteico por vía enzimática.

Para la hidrólisis del almidón de quinua, 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 luego se procedió a la adición de 0,025g; 0,050g de enzima (Diastasa) para el desdoblamiento del almidón en azúcares durante 8 horas, dicho proceso se efectuó en un macerador de 4 litros, con control de agitación, temperatura y pH para dar inicio al proceso de hidrólisis. Una vez finalizado el proceso de la hidrólisis se centrifugó durante 15 min a 10000 rpm, donde se observó la separación del sobrenadante del precipitado, se tomó lo precipitado y se realizó dos lavados con la finalidad de eliminar los azúcares presentes en el aislado una vez finalizado el proceso fue llevado a congelación (-15°C) para su liofilización por 120 horas a -37°C y a 9,8 KPa de presión; una vez secada la proteína se almacenó en fundas.

VARIABLES EVALUADAS EN EL AISLADO PROTEICO POR VÍA ENZIMÁTICA

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, mediante método Gallo (1997), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

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.

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

$$\% \text{ Almidón} = (a - b) \times f \%$$

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

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final}}{\text{masa inicial}} \times 100$$

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.

4.2. Determinación de los parámetros tecnológicos para la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

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) luego 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. Una vez finalizado el proceso hidrolítico; se centrifugó durante 15 min a 10000 rpm, donde se observó la separación del sobrenadante del precipitado, se tomó el sobrenadante el cual contiene enlaces peptídicos más pequeños, una vez finalizado el proceso fue llevado a congelación (-15°C) para su liofilización llevado a 120 horas a -37°C y a 9,8 KPa de presión, una vez seca la proteína hidrolizada, se almacenada en fundas.

Variables evaluadas en la hidrólisis de la proteína de quinua

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. El grado de hidrólisis, se calculó aplicando la siguiente fórmula:

Ecuación 4 Grado de hidrólisis de la proteína hidrolizada

$$GD = \frac{\text{proteína soluble con TCA al 10\%}}{\text{proteína total}} \times 100$$

Índice de refracción.- Se tomó muestras cada 30 minutos para medir el proceso de hidrólisis de la proteína por medio del cambio de luz indicativo del rompimiento de enlaces peptídicos, mediante el método adaptado por el departamento de Nutrición y calidad INIAP.

4.3. Determinación de las propiedades funcionales y nutricionales del hidrolizado proteico

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.

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.

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.

Ecuación 5 Capacidad espumante en la proteína hidrolizada

$$IV(\%) = \frac{V_f - V_o(\%)}{V_o(\%)} \times 100$$

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)

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.

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 Prederivatization (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. Resultados

5.- Resultados y Discusiones.

5.1. Método tradicional, precipitación isoeléctrica.

Este método comprende dos fases, como son: la solubilidad alcalina y la

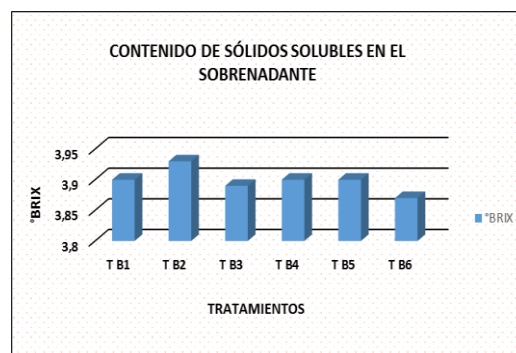
$$CRA = \frac{\text{peso de pellet hidratado} - \text{peso de muestra (b. s)}}{\text{peso de muestra (b. s)}}$$

Dónde: bs: base seca muestra

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.

5.1.1. 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

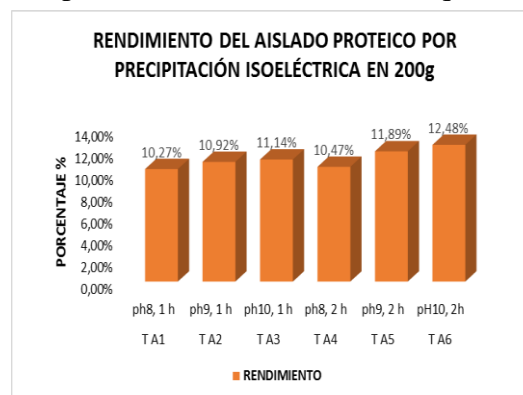


sobrenadante.

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 trabajó 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, fenómeno que permite a las proteínas, su interacción con el disolvente aumentando de este modo su solubilidad, 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.

5.1.2. *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.

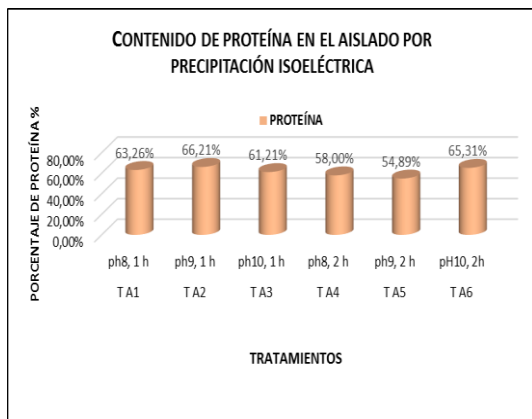
Las variables evaluadas en esta fase para la obtención del aislado proteico, permitió establecer la cantidad de proteína extraída por precipitación isoeléctrica y por consiguiente su rendimiento.

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

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 así su interacción directa con la proteína (Badui, 2013). No obstante, al aumentar la concentración del disolvente aumenta el coeficiente de transferencia de masa resultando una mayor extracción de proteína.

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



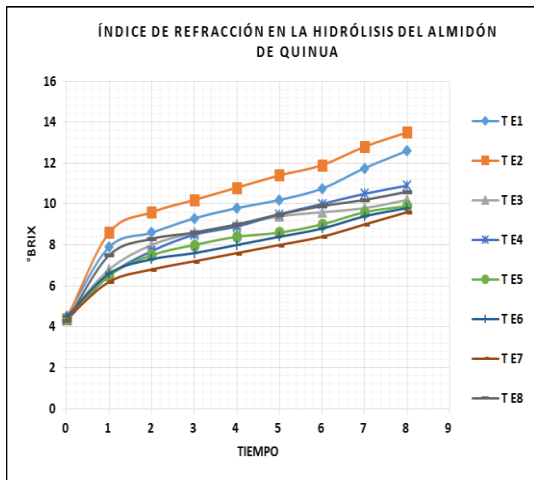
El aislado proteico por precipitación isoeléctrica, alcanzó un contenido de proteína de 66,21% en el T_{A2} a pH 9, porcentaje superior con respecto al aislado de quinua obtenido por Toapanta (2016) con 64,97% de

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.

5.2. 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).

5.2.1 Variable índice de refracción para la hidrólisis del almidón de

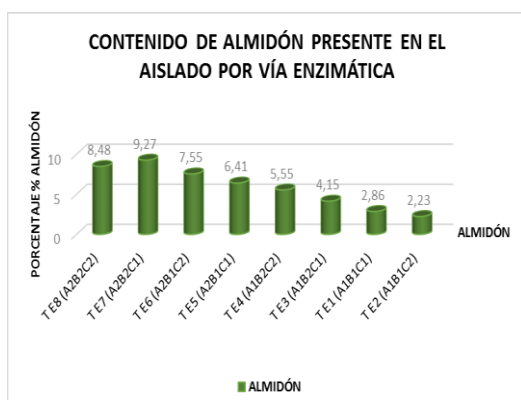


quinua.

La hidrólisis del almidón de quinua por vía enzimática, se obtuvo mayor

cantidad de azúcares liberados por medio de la degradación del almidón en el tratamiento T_{E2} (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 amiloglucosidasa. 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).

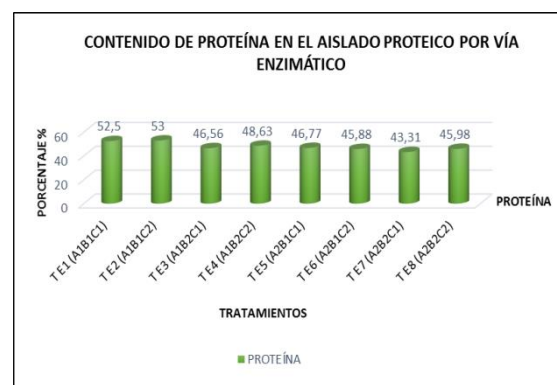
5.2.2. Variable contenido de almidón presente en el aislado por vía enzimática.



La hidrólisis del almidón de quinua por vía enzimática, se obtuvo menor contenido de almidón presente en el

aislado proteico de 2,23% en el tratamiento T_{E2} (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.

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



enzimática.

El aislado proteico por vía enzimática,
alcanzó un contenido de proteína de
53%

en el T_{E2} (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 40% de proteína aislada, 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.

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



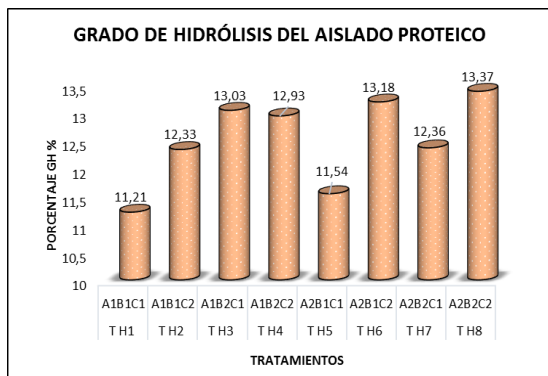
El aislado proteico por vía enzimática, obtuvo un rendimiento de 49,23% en el T_{E2} (0,025g a 60°C y pH 7,5); el dato registrado es inferior en comparación

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.

5.3. Determinar los parámetros tecnológicos para la obtención de un hidrolizado proteico de quinua.

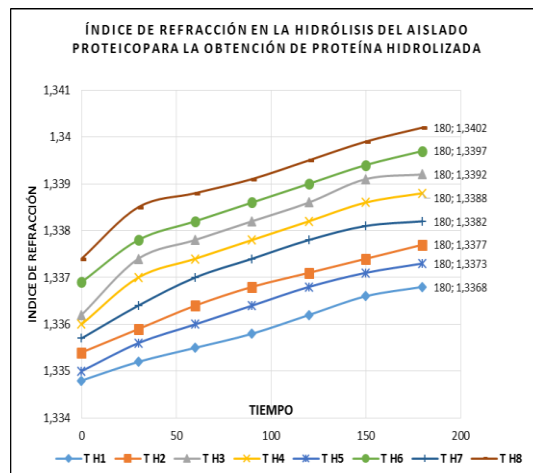
Los resultados de los ensayos 5.1 y 5.2 orientaron la elección de la tecnología apropiada para la obtención del aislado proteico, con el cual se evaluó las dos metodologías y se obtuvo un mejor contenido de proteína por precipitación isoeléctrica T2 (ácido cítrico, pH 9 con un lavado) representando 66,21% de proteína; con el cual se tomó para el proceso en la obtención de proteína hidrolizada de quinua.

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



El hidrolizado proteico de quinua, alcanzó un grado de hidrólisis de 13,37% en el TH8 (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 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 ya que se 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.

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



La proteína hidrolizada de quinua, alcanzó un índice de refracción de 1,3402 en el TH8 (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.

5.4. Caracterización química del hidrolizado proteico de quinua.

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

Tabla 1 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

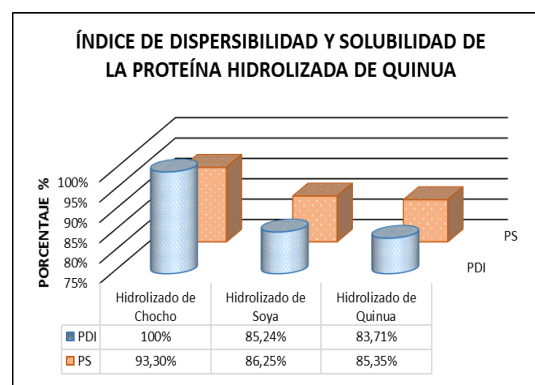
El análisis proximal del hidrolizado proteico de quinua, presento un contenido de proteína 73,41%. El incremento del valor en la proteína del hidrolizado, con respecto al valor del aislado fue de 7,2% los valores de extracto etéreo, carbohidratos totales y fibra cruda se encuentran en menor cantidad. 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.

5.5. Determinación de las propiedades funcionales y nutricionales del hidrolizado proteico de quinua

Las propiedades funcionales y nutricionales, se lo realizó con el mejor

tratamiento obtenido de la proteína hidrolizada de quinua se procedió a evaluar las siguientes propiedades

5.5.1. Índice de dispersibilidad y solubilidad de la proteína hidrolizada de quinua.



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 endoproteasas y exoproteasas. 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.

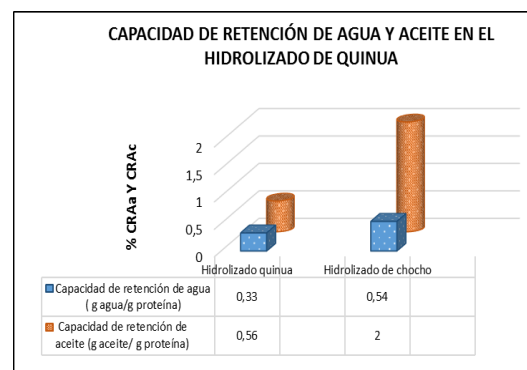
Por lo tanto el bajo índice de dispersibilidad de la proteína en el hidrolizado de quinua, se debió a una hidrólisis baja ya que probablemente la endoproteasa papaína alcanzó a romper pocos en enlaces peptídicos internos de la proteína, lo cual se traduce a un bajo porcentaje del rompimiento de la red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

5.5.2. Capacidad de retención de agua y aceite en el hidrolizado proteico de quinua

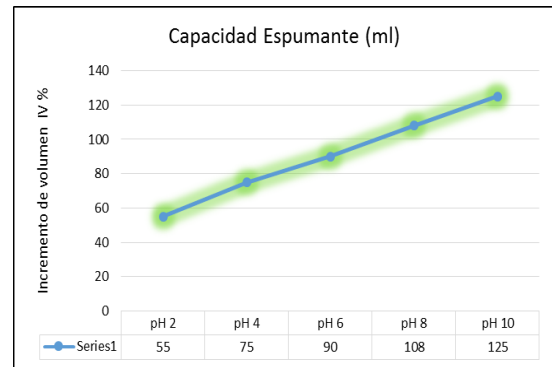


La proteína hidrolizada de quinua presentó una menor capacidad de retención de agua 0,33 g agua/ g proteína y una mayor capacidad de retención de aceite 0,56 g aceite/ g proteína. Los datos obtenidos en esta investigación son inferiores en

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. Es decir la habilidad de la proteína en atrapar agua y aceite dentro de su matriz, se debe a la distribución de numerosos grupos polares libres permitiendo una mayor interacción entre el agua y las moléculas de las proteínas Nelson (2011). Sin embargo en la capacidad de retención de aceite estos 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 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; 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.



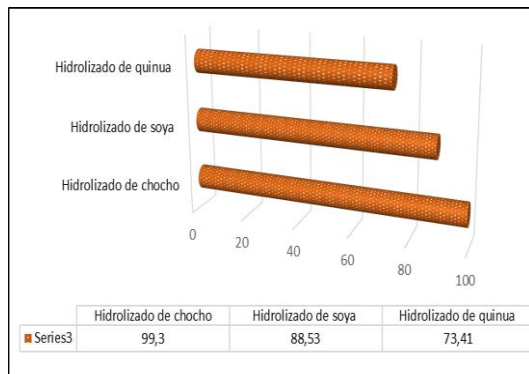
5.5.3. Capacidad espumante en el hidrolizado proteico de quinua.

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. 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.

5.5.4. Contenido de proteína en el hidrolizado proteico de quinua.



El hidrolizado proteico de quinua presentó un contenido de proteína de 73,41%, el dato obtenido es inferior en comparación a las investigaciones 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 soja. 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

5.5.5. Perfil de aminoácidos en el hidrolizado de quinua

La quinua contiene 16 aminoácidos, de los cuales 10 son esenciales: histidina,

Tabla 24. 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	*	*
Serina	4,8	3,30 ± 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

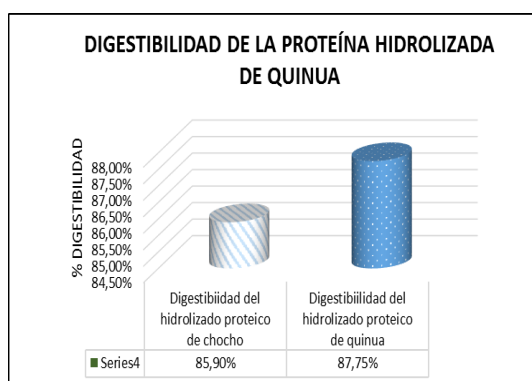
Fuente: aminoácidos esenciales para el ser humano según la OMS/ ONU (Zegarra, 2010)
 Fuente: contenido de aminoácidos en el aislado proteico de quinua A9 (Rivera, 2006)

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 ° 24, 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, 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.

5.5.6. Digestibilidad de la proteína en el hidrolizado de quinua



El hidrolizado proteico de quinua presentó una digestibilidad de proteína de 87,75% a pH 6,78 porcentaje mayor con respecto 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).

6. Conclusiones y Recomendaciones

6.1. 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 isoelectrico.

*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 isoelectrico, el tratamiento con mayor rendimiento en aislado proteico es con los parámetros: solubilización a pH 9 y precipitación isoelectrica 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 UA/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.

6.2. 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 surgiere 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 surgiere 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.

7. Bibliografía

A.O.A.C. (1984). Association of official Analytical chemists. official methods of analysis. (955.39.).

Amercan Association of cereal chemists. (2011). En A. Nelson, *High- Fiber properties and analyses* (págs. 29-44). Minnessota.

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.), *Quimica de los alimentos* (8 ed., Vol. 4, pág. 286). México.

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.

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.
- Callisaya, C., & Alvarado, A. (2009). Aislados proteínicos de granos Altoandinos Chenopodiaceas; Quinoa "Chenopodium quinoa"-Cañahua "Chenopodium Pallicale" por precipitación isoeléctrica. *Revista Boliviana de Química*, 26(1), 12-20.
- Casallas, V., Gonzales, M., Rodriguez, S., & Suta, C. (2015). Hidrólisis de almidón: análisis enzimático de diástasa. *Tecnología en Química Industrial*.
- Chau, C., cheung, K., & whon, Y. (1977). Functional properties of protein concentrates from three chinese indigenous 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.
- Fennema, O. (2010). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En *Química de los alimentos* (págs. 472-473). Acribia editorial.
- 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).
- 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.
- Hsu, e. a. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. of food Sc*, 5, 42.
- Kim, S., Peter, S., & Rhee, K. (1990). Functional 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.
- Mckee, T., & Mckee, J. (2014). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En *Bioquímica las bases moleculares de la vida* (pág. 110). México.

- Mufari, J., Cevilla, N., Guzmàn, C., & Calandri, E. (2013). Comparación entre Precipitación Isoeléctrica y Ensayos Enzimáticos para la obtención de Concentrados Proteicos de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) de los Alimentos y Tecnología Química, Chile.
- Shimadzu, M. (1993). Amino acid analysis system. *Instruction manual*.
- Silva, M. J. (2006). *Obtención, caracterización y relación*
- Toapanta, M. (2016). *Caracterización de asilados 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.
- Vicente, G. (2013). *Extracción, cuantificación y purificación de*
- Mufari, J., Cevilla, N., Guzmàn, C., & Calandri, E. (2013). Comparación entre Precipitación Isoeléctrica y Ensayos Enzimáticos para la obtención de Concentrados Proteicos de Quinoa (*Chenopodium quinoa*)
- Parras, R. (2009). Los hidrolizados . *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 4967-4982.
- Proteins as Ingredients: Types, Funtions, Applications. (1995). En J. Giese, *Food Technology* (Vol. 1, págs. 50-60).
- Revelo, A. (2010). *Desarrollo y evaluación de las tecnologías para la elaboracion de un snack tipo laminado apartir 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.
- Rivera, F. M. (2006). *Obtención, caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de una aislado proeico de quinua orgánica (*Chenopodium quinoa willd*)*. Tesis de pregrado, Universidad de Chile , Ciencia

saponinas de semillas de Chenopodium quinoa willd provenientes del noroeste de argentino. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.

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.

Zapata, A. C. (2011). *Determinación de las propiedades físico-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. (2010). Heat- induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties. *Agric. Food chem*, 1, 41.

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