

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE UN AISLADO PROTEICO DE
QUINUA NEGRA (*Chenopodium quinoa Willdenow*) VARIEDAD COLLANA**

Tesis presentada como requerimiento para optar el título profesional de Ingeniero de
Alimentos

Autor:

Bach. Díaz de la Vega Huanca, Marita Ada Shirley

Asesor:

MgSc. Reyes Javier, Percy

Lima, diciembre de 2015

Más las gracias sean dadas a
Dios; el principio de la
sabiduría es el temor de Jehová;
Los insensatos desprecian la
sabiduría y la enseñanza
(Proverbios 1:7).

DEDICATORIA

Con cariño a mis padres representativos
Raymundo Huanca Mendoza y Marcela Yujra
Caira y a mi madre Elda Huanca Yujra por su
sacrificio, confianza y amor

AGRADECIMIENTOS

A Dios en primer lugar por la sabiduría brindada, a mis padres amados, Elda Huanca Yujra y Raymundo Huanca Mendoza y a mi hermano Juan Humberto Diaz de la Vega Huanca por el apoyo incondicional brindado en toda mi formación y en la realización de este trabajo de investigación.

A Marcela Yujra Caira que hoy descansa hasta la segunda venida de Cristo, a mis padrinos Beatriz Huanca y Raúl Chilquillo por la orientación la ayuda financiera, la motivación y el sustento brindado.

A Nancy Huanca y Edgar Soto, Jorge Huanca y Martha Espinoza, Lucy Huanca, Rubén Huanca y Fela Ramos, Ana Huanca y Pablo Shuan, Carlos Huanca y Tania Vidal y en especial a Saturnino Huanca que hoy descansa en Dios, por la orientación y el sustento brindado.

A Aldo y Erick Soto Huanca, Camila y Diego Huanca Ramos, Sheyla y Karen Shuan Huanca, Andrea, Nicolás y Chiara Huanca Espinoza, Mauricio Huanca Vidal.

Al Dr. Alfredo Matos Chamorro, al Ing. Joel Coaquira Quispe, al Ing. Alejandro Saito Roncal.

A todos mis amigos por el apoyo y su colaboración brindada en esta investigación.

A la E.P. Ingeniería de Industrias Alimentarias, presidida por el Mg. Eduardo Meza Mantari, y a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura dirigida por la Dra. Leonor Bustinza, por el permiso del uso de los laboratorios e insumos químicos.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1 Objetivos.....	18
1.1.1 Objetivo general	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
2 MARCO TEÓRICO	19
2.1 Taxonomía de la quinua.....	19
2.1.1 Nombres comunes de la quinua	19
2.1.2 Quinua negra variedad Collana.....	20
2.2 Estudio morfológico, tamaño y color del grano quinua negra.....	20
2.3 Composición del grano de quinua	22
2.3.1 Proteína.....	22
2.3.2 Almidón.....	22
2.3.3 Fibra cruda.....	23
2.3.4 Azúcares	24
2.3.5 Grasa.....	24
2.3.6 Ceniza total.....	27
2.3.7 Saponinas	28

	Pág.
2.3.8 Vitaminas	28
2.3.9 Antioxidantes	29
2.4 La proteína – el polímero.....	32
2.4.1 Estructura de la proteína.....	32
2.4.2 Estructura terciaria de las proteínas	35
2.4.3 Péptidos	37
2.4.4 Aminoácidos.....	38
2.5 Diferencias de la proteína vegetal y animal.....	41
2.6 Propiedades funcionales de las proteínas	42
2.6.1 Relaciones entre las propiedades funcionales y sensoriales.....	42
2.6.2 Solubilidad	43
2.6.3 Formación de espuma.....	44
2.7 Clasificación de los productos de acuerdo a su contenido proteico	44
2.7.1 Harinas integrales o enteras.....	44
2.7.2 Harinas Refinadas	45
2.7.3 Concentrado proteico	45
2.7.4 Aislado proteico	45
2.8 Propiedades nutricionales de la proteína de quínoa.....	46

	Pág.
2.8.1	Score aminoacídico 47
2.8.2	Digestibilidad de la proteína 47
2.8.3	Quinoa considerada libre de gluten 47
3	MATERIALES Y MÉTODOS 48
3.1	Lugar de ejecución..... 48
3.2	Materiales e insumos 48
3.2.1	Materia prima 48
3.2.2	Reactivos 49
3.2.3	Materiales 49
3.2.4	Equipos..... 49
3.3	Métodos de análisis..... 50
3.3.1	Análisis de la materia prima..... 50
3.4	Metodología experimental 51
3.4.1	Evaluación de los parámetros..... 51
3.5	Diseño Estadístico 55
4	RESULTADOS Y DISCUSIONES 58
4.1	Caracterización de la materia prima..... 58
4.2	Evaluación de los parámetros del aislado proteico de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>)..... 60

4.2.1	Análisis estadístico.....	60
4.2.2	Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>) variedad collana evaluando el rendimiento a tres puntos isoelectricos (3, 4 y 5).....	61
4.2.3	Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>) variedad collana evaluando la solubilidad a tres puntos isoelectricos (3, 4 y 5)	62
4.2.4	Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>) variedad collana evaluando la pureza a tres puntos isoelectricos (3, 4 y 5).....	68
4.2.5	Influencia de las variables de estudio.....	68
5	CONCLUSIONES	77
6	RECOMENDACIONES.....	78
7	REFERENCIAS	79

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición de fibra en la harina de trigo y de quinua	24
Tabla 2. Composición de grasa en muestras de granos de quinua	25
Tabla 3. Composición de ácidos grasos de semillas de quinua (porcentaje relativo) .	26
Tabla 4. Datos químicos de las muestras de quinua en calibración y validación de conjuntos (peso seco).....	27
Tabla 5. Contenido de minerales en quinoa y otros granos	28
Tabla 6. Composición de concentraciones de vitaminas en quinua y arroz.....	29
Tabla 7. Concentración de compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de quinua blanca, roja y negra	30
Tabla 8. Mecanismos responsables de la interacción, energías y distancias de la interacción y ejemplos de las fuerzas estructurales de las proteínas.....	33
Tabla 9. Clasificación de los aminoácidos en alimentos.....	40
Tabla 10. Diferencias de la proteína vegetal y animal	41
Tabla 11. Propiedades funcionales, estado físico y propiedades sensoriales.....	43
Tabla 12. Niveles codificados de las variables independientes para la evaluación	56
Tabla 13. Diseño Central Compuesto para la obtención del aislado proteico de quinua negra.....	56

Tabla 14. Composición proximal de la harina de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>) variedad Collana sin lavar	60
Tabla 15. Resultados del diseño central compuesto.....	64
Tabla 16. Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoeléctrico 3.....	65
Tabla 17. Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoeléctrico 4.....	66
Tabla 18. Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoeléctrico 5.....	67
Tabla 19. Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 5	109
Tabla 20. Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 4	110
Tabla 21. Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 3	111

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura anatómica del grano de quinua (Badui, 2006).....	21
Figura 2. Microscopia electrónica de granulo de almidón de Quinua (Atwell et. al., 1982).	23
Figura 3. Estructura primaria (Fennema & Tannenbaum, 2000).....	34
Figura 4. Enlace peptídico plana (Littlechild, 2013).....	35
Figura 5. Representación esquemática de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de la mioglobina (Badui, 2006).....	36
Figura 6. Formación de un péptido (Badui, 2006).....	38
Figura 7. Alfa aminoácidos (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989).....	39
Figura 8. Diagrama de trabajo de la presente investigación	52
Figura 9. Flujo de operaciones para la obtención de aislado proteico proveniente de granos de quinua variedad negra collana (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>).....	54
Figura 10. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas en función de la temperatura y pH.....	70
Figura 11. Superficies de respuesta de la solubilidad en función del pH y la temperatura considerando los valores codificados.....	73
Figura 12. Superficies de respuesta de la pureza en función de la temperatura y el pH considerando los valores codificados.....	76
Figura 13. Esquema del equipo de extracción de Grasa (Soxhlet)	92

Figura 14. Flujo de operaciones para la obtención de aislado proteico proveniente de granos de quinua variedad negra collana (<i>Chenopodium quinoa Willdenow</i>).....	99
Figura 15. Punto isoelectrico (3).....	101
Figura 16. Punto isoelectrico (4).....	102
Figura 17. Punto isoelectrico (5).....	103
Figura 18. Análisis proximales de la harina de quinua negra	104
Figura 19. Procedencia de la materia prima.....	105
Figura 20. Esquema del equipo de extracción de proteínas	106
Figura 21. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 3 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza.....	112
Figura 22. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 4 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza.....	113
Figura 23. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 5 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza.....	114
Figura 24. Variables significativas en el diseño según diagrama de pareto, (A) punto isoelectrico 3, (B) punto isoelectrico 4 (C) punto isoelectrico 5 del rendimiento	116

INDICE DE ECUACIONES

	Pág.
Ecuación 1. Codificación de las variables.....	55
Ecuación 2. Determinación de Humedad.....	88
Ecuación 3. Determinación de cenizas.....	89
Ecuación 4. Determinación de extracto etéreo o grasa cruda	91
Ecuación 5. Determinación de proteína por el método de Kjendahl.....	94
Ecuación 6. Determinación de fibra cruda.....	95
Ecuación 7. Determinación de Carbohidratos.....	96
Ecuación 8 - Determinación de solubilidad	100
Ecuación 9. Rendimiento del aislado proteico.....	107
Ecuación 10. Determinación del contenido de proteína	108

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Determinación de Humedad (AOAC 2000 - Método 44.19)	88
Anexo 2. Determinación de cenizas (AOAC 2000 - Método 08 - 01).....	89
Anexo 3. Determinación de extracto etéreo o grasa cruda (AOAC 1980).....	90
Anexo 4. Equipo de extracción de grasa (Soxhlet).....	92
Anexo 5. Determinación de proteína por el método de Kjendahl (AACC 46-13).....	93
Anexo 6. Determinación de fibra cruda (AOAC 2005)	95
Anexo 7. Determinación de Carbohidratos (MS-INN – Collazos 1993).....	96
Anexo 8. Obtención del Aislado proteico (AOAC 1980).....	97
Anexo 9. Obtención del Aislado proteico (AOAC 1980).....	99
Anexo 10. Determinación de la Solubilidad de la proteína	100
Anexo 11. Aislado proteico con punto isoelectrico a diferentes pH y temperaturas	101
Anexo 12. Aislado proteico con punto isoelectrico a diferentes pH y temperaturas	102
Anexo 13. Aislado proteico con punto isoelectrico a diferentes pH y temperaturas	103
Anexo 14. Determinación de los análisis proximales de la harina de quinua negra (<i>Chenopodium quinoa willdenow</i>).....	104
Anexo 15. Procedencia de la materia prima quinua negra variedad Collana (<i>Chenopodium quinoa willdenow</i>).....	105
Anexo 16. Equipo de extracción de proteínas.....	106

	Pág.
Anexo 17. Rendimiento de extracción del aislado proteico.....	107
Anexo 18. Contenido de proteína	108
Anexo 19. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 5	109
Anexo 20. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 4	110
Anexo 21. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 3	111
Anexo 22. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 3	112
Anexo 23. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 4	113
Anexo 24. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 5	114
Anexo 25. Análisis de significancia de las variables independientes	115

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han observado cambios en los patrones de alimentación de las personas, mediante la adopción de un estilo de vida más agitada, el consumo de alimentos de preparación rápida algunas veces es el responsable de un aumento de las enfermedades relacionadas con la mala nutrición, así como las enfermedades cardiovasculares, desnutrición, la diabetes, el colesterol y la obesidad (Zanabria, 2003).

Según Jara (2008) el hambre y la desnutrición no solo causan impactos sobre la pobreza, sino también repercuten, en la salud, la educación y la mortalidad. Innumerables estudios e investigaciones muestran importantes evidencias como también revelan que el hambre y la desnutrición merman la asistencia y aprendizaje escolar y obstaculizan el acceso a mercados y recursos, a la salud materna e infantil, el sistema inmunitario, la educación y el empleo.

El grano de quinua es un alimento rico en proteínas, sin embargo, a pesar de su buen contenido de nutrientes diversas investigaciones concluyen que los aminoácidos de la proteína en la harina cruda y sin lavar no están del todo disponibles, porque contienen sustancias que interfieren con la utilización biológica de los nutrientes, tales como fibra cruda y otras sustancias que se comportan como anti-nutrientes denominado saponinas que son glucósidos (López de Romaña, Grabam, Rojas & MacLean, 1981).

A partir de esta necesidad, se desarrollaran los procesos necesarios para aislar o extraer las proteínas y obtener así los denominados aislados proteicos, que constituyen un purificado proteico a partir del alimento o fuente orgánica inicial. De esta manera, se ha llegado a obtener un macronutriente con un papel nutricional en la alimentación propiamente dicha, y con un papel funcional en la elaboración tecnológica e industrial de alimentos (Curare, 2006).

El uso de aislados de proteína tiene aumento en la industria alimentaria debido a diferentes factores tales como el alto nivel de proteínas, una buena funcionalidad, y bajo contenido de factores anti-nutricionales (Cordero de los santos, Osuna, Borodanenko & Paredes, 2005).

A pesar del alto valor nutricional de las proteínas de quinua, debido a la alta calidad de aminoácidos, su uso como ingredientes alimenticios en forma de aislados de proteína depende en gran parte de sus propiedades funcionales, que son relacionados a sus características estructurales y, junto con su composición a diversos valores de pH alcalino, dependerá del pH de la extracción y la composición y el grado de despliegue de la proteína aislada, se puede controlar mediante diferentes condiciones de extracción (Martinez & Anon, 1996; Tang C, Ten Z, Wang & Yang, 2006). Los procesos aplicados para obtener proteínas aislados tienen en común el uso de medios alcalinos (pH 8-11) para la solubilización de proteínas y medios ácidos (pH 4-6) por su precipitación isoelectrica (Paredes, Mendoza & Mora, 1993).

Las proporciones de las diferentes fracciones en una proteína aislada y sus especiales propiedades funcionales y nutricionales dependen del método de preparación utilizado; por ejemplo, para aislados de proteína de amaranto obtenida por dos métodos distintos, extracción alcalina-isoelectrica (la precipitación) y la formación de micelas, la extracción alcalina tenía una mayor producción de proteína y el contenido de proteína de la formación de micelas (Cordero de los Santos, Osuna, Borodanenko & Paredes, 2005).

La composición, el rendimiento, y el grado de despliegue de las proteínas aisladas podrían ser controladas por la elección de diferentes combinaciones de extracción y pH precipitación (Martinez & Anon, 1996; Paredes, Mora & Odorica, 1988; Soriano & Cordoba,

1995). Las propiedades funcionales de las proteínas, son importantes en el procesamiento de alimentos y su formulación; algunas de estas propiedades son relacionadas con la hidratación, como la capacidad de retención de agua (WHC), capacidad de absorción de agua (WIC), y la solubilidad.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

- Evaluar los parámetros pH y temperatura para la extracción del aislado proteico de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad Collana mediante el diseño central compuesto en la elaboración de un aislado proteico.

1.1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de la harina de quinua negra variedad Collana (*Chenopodium quinoa Willdenow*).
- Identificar las mejores condiciones de extracción (pH y temperatura) para aumentar el rendimiento del aislado proteico de quinua negra variedad Collana (*Chenopodium quinoa Willdenow*).
- Evaluar la caracterización del aislado proteico extraído bajo los parámetros determinados.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Taxonomía de la quinua

La clasificación taxonómica de *Chenopodium Quinoa* Willdenow "Quinoa Negra" según Cronquist (1981) es la siguiente:

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Caryophylliadae

Orden Caryophyllales

Familia Chenopodiaceae

Género *Chenopodium*

Especie *Chenopodium Quínoa Willd*

2.1.1 Nombres comunes de la quinua

El nombre botánico de la quinua es *Chenopodium quinua* Willdenow (Vietmeyer, 1989). Los nombres comunes de la quinua según algunos dialectos son:

- Quechua: kiuna, quinua, parca.
- Aymara: supha, jopa, jupha, jaira, ccallapi, aara, ajara.
- Chibcha: suba, pasca.
- Mapuche: quinhua
- Español: quínoa, quínoa, quinquá, kinoa, triguillo, trigo inca, arrocillo, arroz del Perú.
- Portugués: arroz miúdo do Perú, espinafre do Perú, quinoa.
- Inglés: quinua, quinua, kinoa, sweet quinua, White quinua, Peruvian rice, Inca rice.

- Francés: ansérine quinoa, riz de Pérou, petit riz de Pérou, quinoa.
- Italiano: quinua, chinua.
- Aleman: Reisspinat, peruanischer Reisspinat, Reismelde, Reis-Gerwacks.

2.1.2 Quinua negra variedad Collana

La nueva variedad denominada quinua (INIA) 420 “Negra Collana”, es un compuesto de 13 accesiones, comúnmente conocidos como “Qyutu jiwras”. Las accesiones recolectadas por Instituto de Innovación Agraria (INIA) - Puno en 1978, de las localidades de Caritamaya, distrito de Acora, provincia de Puno. Según el INIA el porcentaje de proteína presente en la quinua negra es de 17,85 % (Instituto de Innovación Agraria, 2013).

2.2 Estudio morfológico, tamaño y color del grano quinua Negra

El nombre común del grano de quinua es nueva variedad de quinua (*Chenopodium quinoa Willdenow*) denominado INIA 420 “Negra Collana”, está formado por semillas de 2 mm de diámetro encerradas en el cáliz, el color del tallo es rojo oscuro, el color de la panoja en la cosecha es gris, el color del perigonio es verde, el aspecto del perisperma es opaco, la altura de la planta es 100 a 110 cm, el color del episperma es negro brillante, el tipo de panoja es diferenciada y terminal y su color antes de la madurez es verde, el contenido de saponinas es de 0.015 a 0.018 % y el de proteínas es de 17. 85 % (Instituto de Innovación Agraria, 2013). La morfología del grano se puede apreciar en la Figura 1.

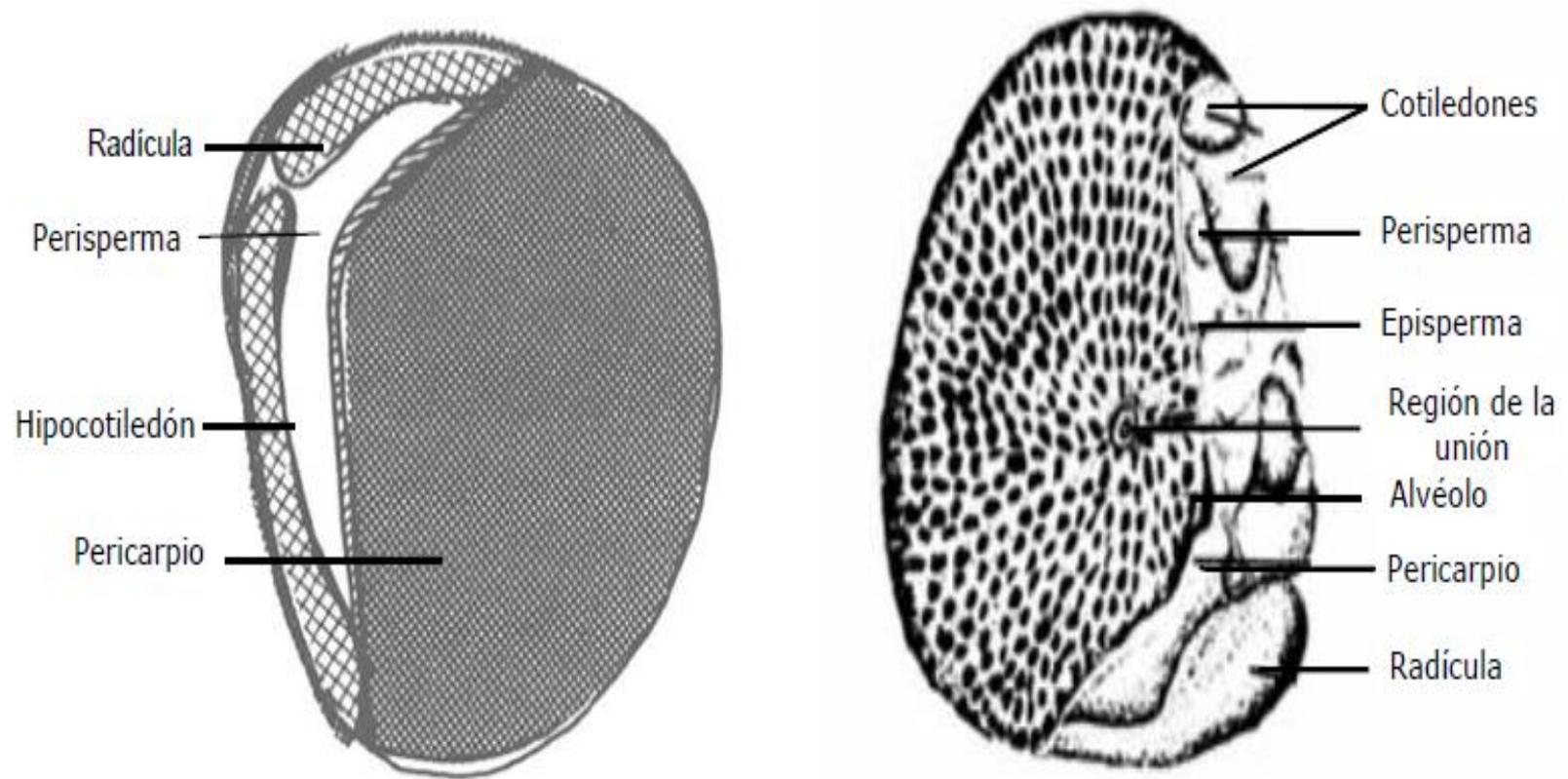


Figura 1. Estructura anatómica del grano de quinua (Badui, 2006).

2.3 Composición del grano de quinua

El grano de quinua está compuesto de un balance excepcionalmente nutritivo de proteína, grasa, aceite y almidón. El embrión ocupa una mayor proporción de las semillas que en los cereales normales, por lo que el contenido de proteínas es alto. El embrión presente en la quinua contiene un 35 - 40 % de proteína (Ayala, 1977) y los granos de quinua presentan un promedio de 16 % de proteína, pero pueden contener hasta un 23 %, más del doble del nivel en los granos de cereales comunes. Por otra parte, la proteína es de inusualmente alta calidad, y es extremadamente cerca de la estándar de la FAO para la nutrición humana (FAO, 1989).

2.3.1 Proteína

La proteína de la quinua es alta en los aminoácidos esenciales como lisina, metionina y cisteína por lo que es complementaria tanto a otros granos (que son notablemente deficientes en lisina), y legumbres como los frijoles (que son deficientes en metionina y cistina) (Vietmeyer, 1989).

2.3.2 Almidón

Las semillas de quinua contienen 58-68 % de almidón. Los gránulos de almidón son extremadamente pequeños (1 – 2.5 μm) y de forma poligonal (Figura 2). Gelatinizan en el rango de 57 a 64 °C. Algunas variedades están compuestas por 11% de amilosa y 89% de amilopectina (Atwell et. al., 1982).

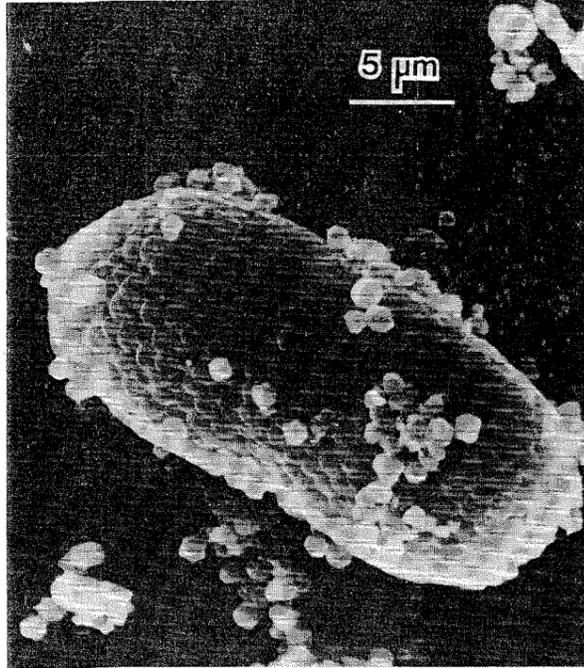


Figura 2. Microscopía electrónica de grano de almidón de Quinoa (Atwell et. al., 1982).

2.3.3 Fibra cruda

La quinoa es una excelente fuente de fibra tanto soluble e insoluble que comprende aproximadamente 6 % del peso total del grano. La fibra es de fácil digestión, es libre de gluten y contiene fitoestrógenos (daidzeína y genisteína), por lo que es un buen sustituto para las personas celiacas o con enfermedad celiaca, el contenido de fibra cruda presente en la quinoa es de 0,73 % (Gonzales, Wells, Fischer & Escuredo, 2013).

2.3.3.1 Fibra dietaría

Desde el punto de vista nutricional, la quinoa representa una fuente importante de fibra dietética y vitaminas como el ácido fólico (Schoenlechner, Wendner, Siebenhandl-Ehn & Berghofer, 2010). La quinoa puede reemplazar parcialmente la harina de trigo en el pan, el aumento de su valor nutricional en términos de fibra dietética es de alto valor biológico (Iglesias, Monedero & Haros, 2014), en la Tabla 1 se muestra la composición de fibra dietética en quinoa.

Tabla 1

Composición de fibra en la harina de trigo y de quinua

Parámetro	Trigo (g/100g)	Quinua (g/100g)
Fibra dietética total	3,39 ± 0,23	6,72 ± 0,28
Fibra dietética soluble	1,72 ± 0,07	2,88 ± 0,02
Fibra dietética insoluble	1,68 ± 0,15	3,85 ± 0,27

Nota: Adaptado de Iglesias, Monedero & Haros, 2014

2.3.4 Azúcares

La sacarosa es el azúcar predominante identificado para la quinua dulce, y los azúcares reductores presentes en la quinua son fructosa y glucosa (Miranda et al., 2010).

2.3.5 Grasa

En general, las semillas de quinua, presentan buena fuente de grasa, en la Tabla 2 se muestra la composición de grasa aproximada de las muestras de granos de quinua (g/100 g) (Carrasco, Hellström, Pihlava & Mattila, 2009).

Tabla 2

Composición de grasa en muestras de granos de quinua

INIA - 415 pasankalla	Roja de Coporaque (g/100 g)	Salcedo INIA (g/100 g)	Huaripongo (g/100 g)
6,85 ± 0,10	5,22 ± 0,08	5,30 ± 0,09	6,14 ± 0,01

Nota: Adaptado de Carrasco, Hellström, Pihlava & Mattila, 2009

2.3.5.1 Ácidos grasos

Las semillas de quinua negra presentan el más bajo contenido de aceite total, sin embargo tienen el contenido más alto de ácido graso ω -3, por lo tanto la relación ácidos grasos poli-Insaturados representan el 58.49 % lo que lo hace el más alto entre las quinuas. Los ácidos grasos ω -3 y ω -6 no sólo actúan como fuente de energía, sino que proporcionan las funciones biológicas esenciales que el cuerpo humano requiere, en la Tabla 3 se muestra los componentes de ácidos grasos presentes en la quinua (Simopoulos, 2008).

Tabla 3

Composición de ácidos grasos de semillas de quinua (porcentaje relativo)

Ácidos grasos	Quinua Roja	Quinua Blanca	Quinua Negra
Ácido palmítico	9,77 ± 0,09	10,00 ± 0,05	9,58 ± 0,02
Ácido esteárico	0,84 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,85 ± 0,01
Ácido oleico	27,48 ± 0,04	29,19 ± 0,04	25,85 ± 0,06
Ácido eleaídico	1,22 ± 0,02	1,27 ± 0,00	1,21 ± 0,01
Ácido linoleico	47,39 ± 0,45	46,67 ± 0,05	49,55 ± 0,07
Ácido gondoico	1,39 ± 0,01	1,40 ± 0,00	1,30 ± 0,00
Ácido α-linolénico	8,44 ± 0,09	7,34 ± 0,05	8,51 ± 0,02
Ácido erúxico	1,09 ± 0,03	1,03 ± 0,01	1,03 ± 0,02
Ácidos grasos saturados	10,75 ± 0,08	11,09 ± 0,06	10,52 ± 0,04
Ácidos grasos mono- insaturados	56,02 ± 0,12	54,23 ± 0,09	58,34 ± 0,11
Proporción de ácidos grasos ω-6 / ω-3	5,62 ± 0,01	6,35 ± 0,05	5,82 ± 0,02
Rendimiento de aceite	7,06 ± 0,04	7,17 ± 0,05	6,58 ± 0,02

Nota: Adaptado de Simopoulos, 2008

2.3.6 Ceniza total

Según Ferreira, Pallone & Poppi (2014) la concentración de ceniza en los granos de quinua se encuentran en el rango comprendido entre 3.07 a 9.15 g/100 gramos de harina integral expresado en base seca, esta diferencia está relacionada con el hecho de que las muestras son de diferentes localidades y distintas variedades, en la Tabla 4 se muestran los datos de ceniza de quinua.

Tabla 4

Datos químicos de las muestras de quinua en calibración y validación de conjuntos (peso seco).

Parámetro	Conjunto de calibración (N = 60)			Conjunto de validación (N = 18)		
	Mínima (%)	Máxima (%)	Media ± (%)	Mínima (%)	Máxima (%)	Media ± (%)
Ceniza	3,07	9,15	5,49 ± 1,39	3,64	7,93	5,87 ± 0,75

Nota: Adaptado de Ferreira, Pallone & Poppi, 2014

2.3.6.1 Minerales

En la Tabla 5 se muestra el contenido de minerales en la quinua y otros granos, la quinua tiene un alto contenido de calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc (Repo-Carrasco, Espinoza & Jacobsen, 2003).

Tabla 5

Contenido de minerales en quinua y otros granos

mg de mineral / 100 gr de harina integral de quinua expresado en base seca	Cebada	Centeno	Quinua	Kañihua
Ca	52.0	49.0	94.0	110.0
Mg	145.0	138.0	270.0	N.R.
Na	49.0	10.0	11.5	N.R.
P	356.0	428.0	140.0	375.0
Fe	4.6	4.4	16.8	15.0
Cu	0.7	0.7	3.7	N.R.
Zn	3.1	2.0	4.8	N.R.

Nota: Adaptado de Repo-Carrasco, Espinoza & Jacobsen, 2003

2.3.7 Saponinas

Las saponinas están presentes en muchas especies de plantas, incluyendo espárragos, alfalfa y soja en la quinua se encuentra en el rango comprendido entre 0.1 a 0.5 %, esta le confiere un sabor amargo. Es necesario la eliminación de las saponinas antes de que el grano sea consumido (Repo-Carrasco, Espinoza & Jacobsen, 2003).

2.3.8 Vitaminas

La FAO, ha observado que las semillas de quinua tienen alto nivel de vitaminas en comparación con el arroz, avena, cebada, en la Tabla 6 se observan la concentración de diversas

vitaminas expresadas en mg/100g en quinua y arroz (FAO citado por Jancurová, Minarovicová & Dandar, 2009).

Tabla 6

Composición de concentraciones de vitaminas en quinua y arroz

Vitaminas	Quinua (mg/100 g de peso seco)	Arroz (mg/100 g de peso seco)
Tiamina (B1)	0,38	0,47
Riboflavina (B2)	0,39	0,10
Niacina (B3)	1,06	5,98
Ácido Ascórbico (C)	4,00	0
α-Tocoferol	5,37	0,18
β-Caroteno	0,39	NR

Nota: Adaptado de Jancurová, Minarovicová & Dandar, (2009). Donde: NR = No reportado

2.3.9 Antioxidantes

En la Tabla 7 se muestran diversos compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes los cuales están presentes en las especies de quinua blanca, roja y negra dicha información esta expresada en (mg/Kg de harina integral de quinua en base seca). Para reportar estos cálculos utilizaron cromatografía líquida, con detector de diodos acoplado a un espectrómetro de masa (LC - DAD - MS) (Tang, Li, Zhang, Chen, Liu & Tsao, 2014).

Tabla 7

Concentración de compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de quinua blanca, roja y negra

Compuestos fenólicos	Quinua Blanca (mg/kg)	Quinua Roja (mg/kg)	Quinua Negra (mg/kg)
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	ND	29,82 ± 0,67	47,38 ± 1,39
Ácido <i>p</i> -Coumarico 4-glucósido	ND	19,34 ± 1,21	31,31 ± 1,88
Ácido <i>p</i> - hidroxibenzoico	15,84 ± 0,72	17,24 ± 0,49	16,97 ± 0,31
Ácido vanílico 4-glucósido	23,09 ± 1,75	24,62 ± 1,12	27,39 ± 1,09
Ácido 2,5 Dihidroxibenzoico	0,59 ± 0,06	0,73 ± 0,13	0,28 ± 0,04
Ácido Cafeico*	4,39 ± 0,02	4,94 ± 0,03	19,61 ± 0,02
Ácido Vanílico	63,45 ± 2,22	70,02 ± 1,71	39,03 ± 2,04
Epigallocatequina	1,55 ± 0,03	2,71 ± 0,04	3,21 ± 0,04
Epicatequina	4,62 ± 0,12	3,89 ± 0,11	4,23 ± 0,18
Vanilina	4,19 ± 0,09	6,65 ± 0,24	8,39 ± 0,39
Acacetin / questin / apigenina-7 metiléter	10,08 ± 0,73	13,33 ± 0,48	16,56 ± 0,55
Ácido <i>p</i> -Coumarico	13,01 ± 0,58	22,73 ± 0,54	29,52 ± 1,06
Ácido Ferúlico	37,52 ± 2,61	58,41 ± 1,82	47,21 ± 1,77
Ácido Ferúlico 4-glucósido	131,97 ± 2,26	151,65 ± 3,17	161,39 ± 0,64
Ácido Isoferúlico	8,21 ± 0,26	19,44 ± 0,62	12,35 ± 0,49
Kaempferol 3,7-dirhamnoside	20,61 ± 0,94	27,00 ± 1,14	29,41 ± 0,52
Kaempferol 3-galactósido	24,01 ± 1,42	28,78 ± 1,77	23,32 ± 0,81
Quercetina-3-rutinósido	57,10 ± 2,76	71,04 ± 1,99	57,63 ± 1,47
Kaempferol 3-glucósido	13,29 ± 1,33	16,42 ± 1,58	24,08 ± 1,69
Quercetina 3-arabinósido	24,97 ± 1,19	26,46 ± 1,28	65,79 ± 0,71

Quercetina	5,27 ± 0,82	11,82 ± 0,41	12,99 ± 0,11
Kaempferol	2,56 ± 0,08	1,18 ± 0,08	1,58 ± 0,07
Biochanina A	0,67 ± 0,27	6,44 ± 0,45	2,42 ± 0,79

Nota: Adaptado de Tang, Li, Zhang, Chen, Liu & Tsao, 2014

2.4 La proteína – el polímero

2.4.1 Estructura de la proteína

Las proteínas pueden ser considerados como los bloques de construcción primarios en todos los organismos vivos (Söding & Lupas, 2003). Es ampliamente reconocido que las funciones de las proteínas están estrechamente relacionados con sus estructuras (Freitas, Wieser & Apweiler, 2010).

La importancia de las proteínas en los sistemas alimenticios no es menor. Poseen propiedades nutricionales, y de sus componentes se obtienen moléculas nitrogenadas que permiten conservar la estructura y el crecimiento de quien las consume; asimismo, pueden ser ingredientes de productos alimenticios y, por sus propiedades funcionales, ayudan a establecer la estructura y las propiedades finales del alimento. Las unidades más simples de la estructura química común a todas las proteínas son los aminoácidos (Badui, 2006).

Según Schultz & Anglemier, (1964) la estructura de las proteínas es descrita mediante fuerzas estructurales, niveles de organización.

2.4.1.1 Fuerzas estructurales en proteínas

Las proteínas se componen de unos 20 aminoácidos diferentes, o también conocidos como residuos aminoácidos. Una variedad de enlaces químicos y otras fuerzas son responsables de la posición exacta de los residuos aminoácidos en las proteínas. Estas fuerzas son provenientes del tipo de enlace y de la interacción de los residuos aminoácidos expresados como fuerza de atracción, repulsión electrostática y de Van der Waals, esto se aprecia en la Tabla 8 (Schultz & Anglemier, 1964).

Tabla 8

Mecanismos responsables de la interacción, energías y distancias de la interacción y ejemplos de las fuerzas estructurales de las proteínas

Tipo	Mecanismo	Energía (Kcal/mole)	Distancia de interacción A	Grupo de interacción	Ejemplo
Enlace Covalente	1 intercambio de electrones	30 - 100	1 - 2	C-C, C-N, C=O, C-H C-N-C S-S	Enlace intra residuos, péptido, disulfuro
Enlace iónico	Coulomb atracción entre grupos cargados de signo opuesto	10 - 20	2 - 3	-NH ₃ ⁺ -C--- NH ₂ \ NH ₂ ⁺ ≥NH ⁺ -COO ⁻	(α- Grupo Amino lisina, arginina, histidina) (aspártico, glutámico, α-grupo carboxilo)
Enlace de hidrógeno	Hidrógeno compartido entre dos átomos electronegativos	2 - 10	2 - 3	N-H ... O=C OH... NH ..., NH ₂ ... NH ₃ ⁺ ..., COO ⁻	Grupo carbonilo de la amida (serina, treonina, tirosina) Cadenas laterales polares de residuos
Fuerza de atracción	Inducción mutua de momentos dipolares en grupos apolares eléctricamente	1 -3	3 - 5	Grupos apolar	Cadenas laterales apolares
Fuerza de repulsión electrostática	Repulsión de Coulomb entre los grupos cargados de signo igual	-	-	Grupos polares del signo igual	Cadena lateral polar
Van der Waals fuerzas repulsivas	Repulsión entre los grupos apolares en las proximidades	-	-	Impedimento estérico entre grupos de cadena lateral	Todos los grupos

Nota: Adaptado de Schultz & Anglemier, 1964

partir de una única cadena de polipéptido dispuestos en una hélice con la mano derecha que tiene 3,6 restos de aminoácidos por cada vuelta de la hélice (Littlechild, 2013).

El segundo tipo principal de estructura secundaria, la lámina β , fue propuesto por Pauling y Corey en 1951 y se compone de al menos dos cadenas polipeptídicas. Las cadenas se pueden organizar en un paralelo o un anti-paralelo y puede decirse que tiene una apariencia ondulada o plisada tal como se aprecia en la Figura 4 (Littlechild, 2013).

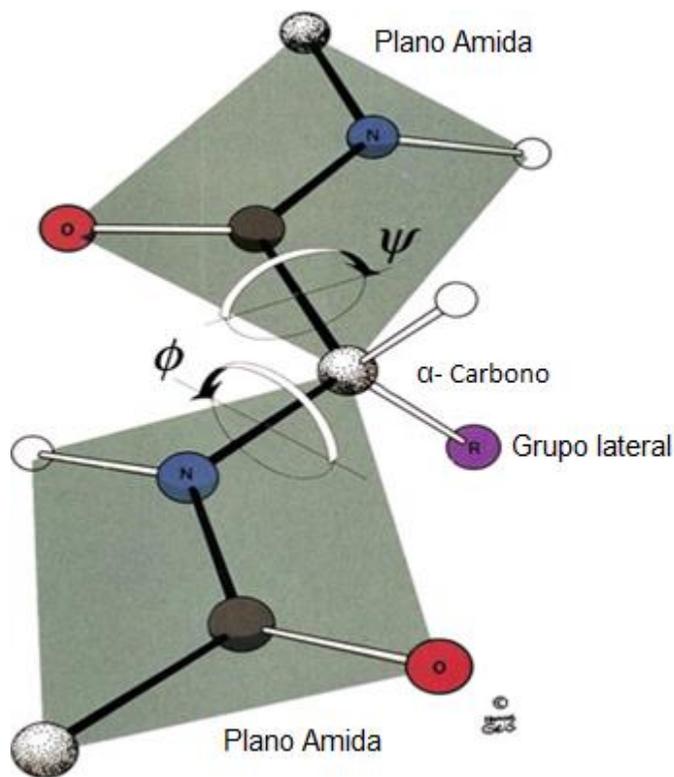


Figura 4. Enlace peptídico plana (Littlechild, 2013).

2.4.2 Estructura terciaria de las proteínas

Este término se refiere al modo en que la cadena polipeptídica se dobla sobre sí misma para producir una estructura plegada y compacta, característica de las proteínas globulares. La estructura terciaria de diferentes proteínas que contienen una sola cadena polipeptídica se compone de dominios que se definen como regiones de una secuencia polipeptídica que se

pliegan en estructura terciaria de manera independiente. Podría pensarse que son una especie de “mini-proteínas” y que todas juntas forman una sola proteína más grande tal como se aprecia en la Figura 5 donde los puntos oscuros representan los átomos de carbono de los aminoácidos. El grupo hemo se localiza en la parte central superior de la molécula (Badui, 2006).

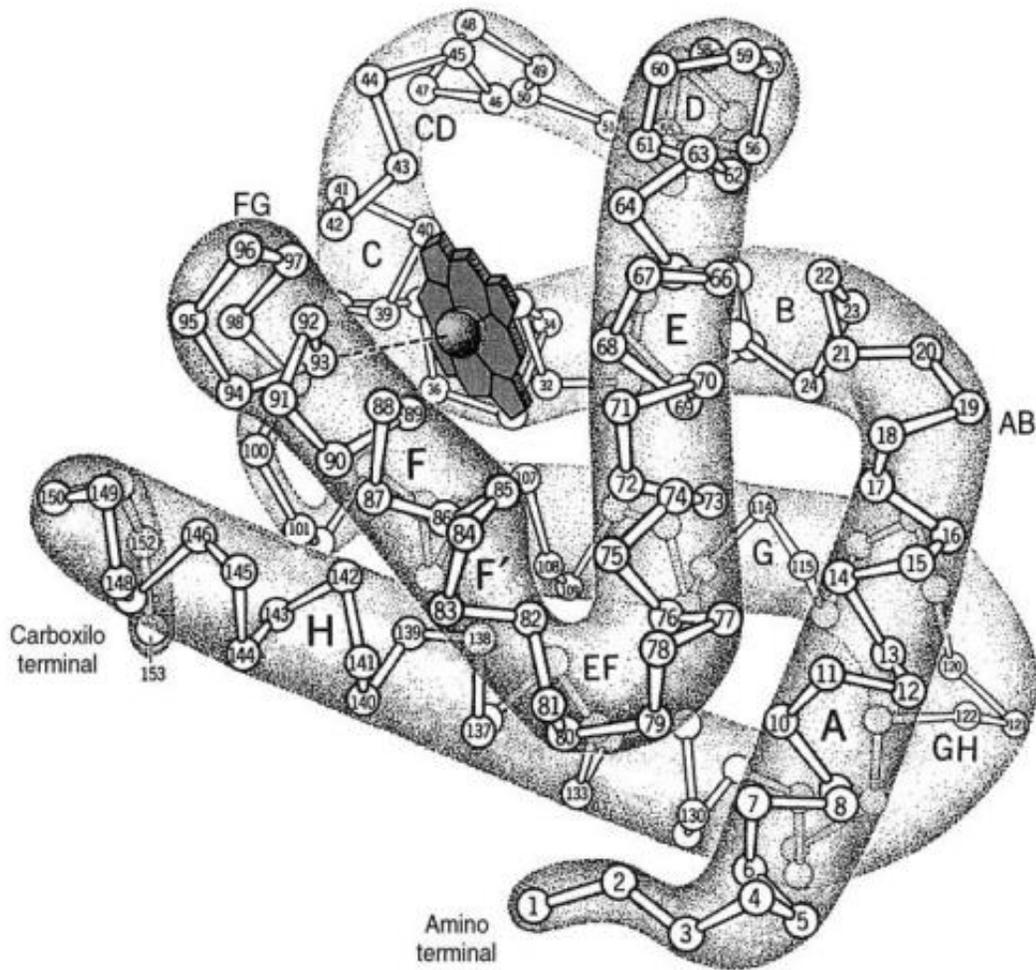


Figura 5. Representación esquemática de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de la mioglobina (Badui, 2006).

2.4.2.1.1 Estructura cuaternaria de las proteínas

A diferencia de las anteriores, esta estructura no necesariamente existe en todos los polipéptidos y se refiere a la asociación de dos o más cadenas. Las interacciones que estabilizan las cadenas polipeptídicas plegadas en las proteínas con múltiples subunidades son de los mismos tipos que las que estabilizan la estructura terciaria: puentes salinos o interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrófobas y, en ocasiones, enlaces disulfuro. Estas interacciones proporcionan la energía necesaria para estabilizar la estructura de múltiples subunidades. Cada cadena polipeptídica es una unidad asimétrica en el agregado, pero la estructura cuaternaria global puede exhibir una amplia variedad de simetrías, en función de la geometría de las interacciones. Existen diferentes proteínas de importancia biológica que adoptan la forma de dímeros, trímeros, tetra-meros, etcétera. Cualquiera de estos complejos constituyen la estructura cuaternaria; son también llamados estructuras oligoméricas, y pueden formarse de subunidades de proteínas (monómeros) que pueden ser iguales (homogéneos) o diferentes (heterogéneos) (Badui, 2006).

2.4.3 Péptidos

Los aminoácidos se unen covalentemente formando un enlace amida entre los grupos α -amino y α -carboxilo. Este enlace suele denominarse enlace peptídico, y los productos que se forman a partir de esta unión se llaman péptidos, tal como se observa en la Figura 6. En estructuras de las proteínas, los átomos en una unidad peptídica se fijan en un plano con las longitudes de enlace y ángulos (Prošková, 2014)

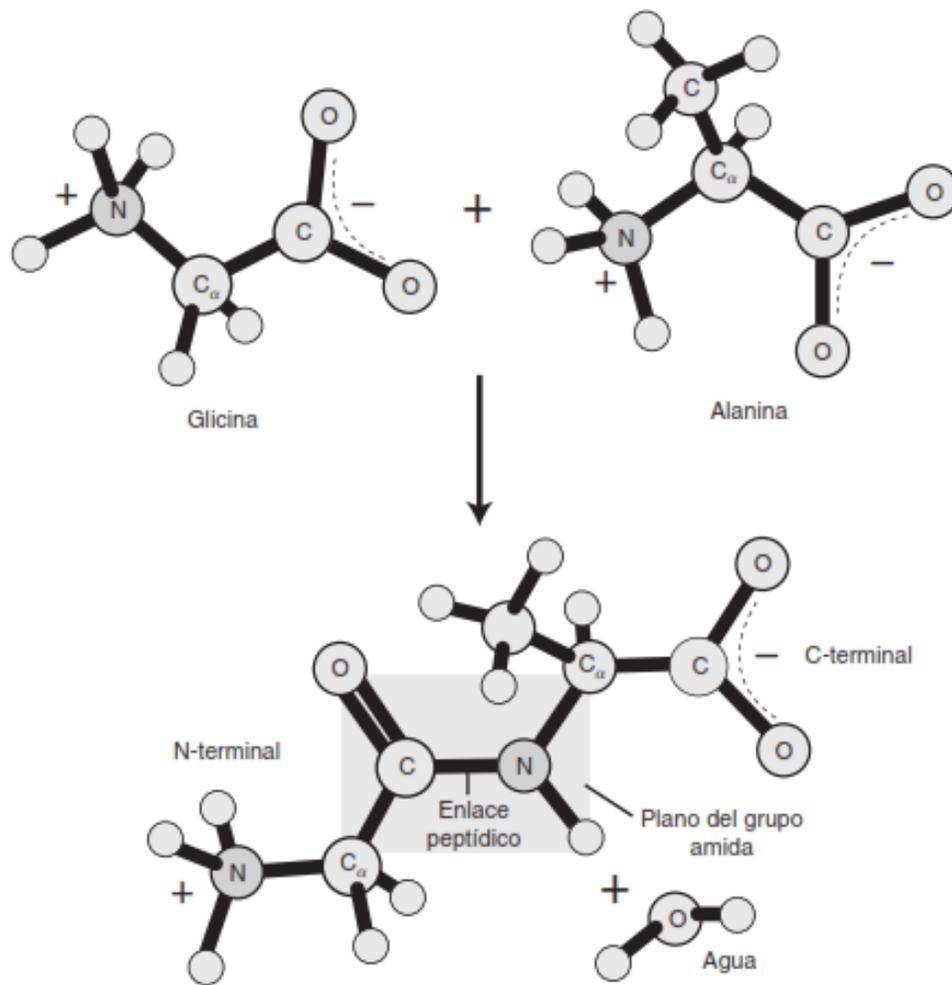


Figura 6 - Formación de un péptido (Badui, 2006).

2.4.4 Aminoácidos

Los aminoácidos son monómeros de las moléculas proteicas. Generalmente en los hidrolizados proteicos están presentes 20 aminoácidos diferentes. También pueden encontrarse en la naturaleza otros menos corrientes y algunos de ellos poseen funciones biológicas (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989). Son compuestos di-funcionales, porque contienen un grupo amino y un grupo carboxilo, como mínimo por lo tanto su fórmula generalizada será:

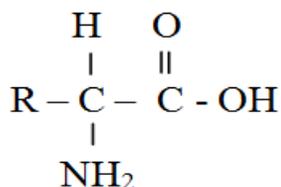


Figura 7. Alfa aminoácidos (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989).

Como se aprecia en la fórmula generalizada (Figura 7), los aminoácidos tienen un carbono asimétrico, por lo tanto deben tener actividad óptica, el carbono que sigue al grupo carboxilo se llama carbono alfa, por ello la denominación de alfa aminoácidos. Estos aminoácidos son los que interesan desde el punto de vista biológico (Gomez Gutierrez, 1978).

2.4.4.1 Aminoácidos estructura

Los aminoácidos contienen, por lo menos, un grupo amino primario (-NH₂) y un grupo carboxilo (-COOH). En los aminoácidos derivados de las proteínas el grupo amino primario ocupa una posición α con relación al grupo carboxílico (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989).

De acuerdo con la definición rígida, cualquier ácido orgánico que posee uno o más sustituyentes amino pueden ser clasificados como un aminoácido. Tal definición, por su propia naturaleza puede incluir una variedad de sustancias de estructura más diversa, tales como β-alanina (NH₂CH₂CH₂CO₂H), taurina (NH₂CH₂CH₂SO₃H), ácido carbámico (NH₂CO₂H), ácido aminomalónico (NH₂CH₂CO₂H) y glicina (NH₂CH(CO₂H)₂), así como una serie aparentemente ilimitado de compuestos relacionados de diferentes tamaños moleculares y la constitución que incorporan diferentes tipos y número de grupos funcionales. Potencialmente de esta amplia gama de compuestos, aquellos que fueron mencionados en el estudio han sido confinados en su mayor parte al relativamente pequeño grupo de α-aminoácidos que forman los constituyentes de las proteínas, además de un número

ligeramente mayor de compuestos sintéticos relacionados y de origen natural. Con pocas excepciones, todos poseen la estructura general (NH₂CHRCO₂H), donde el grupo amino ocupa una posición en el átomo de carbono alfa a la del grupo carboxilo, y donde la cadena lateral R puede ser de diversa composición y estructura (Greenstein & Winitz, 1961).

Cada aminoácido tiene una cadena lateral característica, R, que influencia sus propiedades fisicoquímicas y, por lo tanto, las propiedades de la proteína que lo contiene (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989).

2.4.4.2 Aminoácidos esenciales

Son aquellos aminoácidos que no pueden ser sintetizados en el cuerpo humano en un ritmo requerido para su desarrollo normal en la Tabla 9 se observa la clasificación de los aminoácidos esenciales y no esenciales (Sumar, 1981).

Tabla 9

Clasificación de los aminoácidos en alimentos

Aminoácidos esenciales	Aminoácidos no esenciales
Lisina	Glicina
Histidina	Alanina
Triptófano	Serina
Fenilalanina	Cistina
Leucina	Tirosina
Arginina	Prolina
Treonina	Hidroxiprolina
Valina	Citrulina
Metionina	Ácido glutámico
Isoleucina	

Nota: Adaptado de Sumar, 1981

2.5 Diferencias de la proteína vegetal y animal

Las diferencias de la proteína animal y vegetal van a ser observadas de acuerdo a su digestibilidad dado que su conformación estructural y organización no difieren ostensiblemente, tal como se aprecia en la Tabla 10.

Tabla 10

Diferencias de la proteína vegetal y animal

Proteínas Vegetales	Proteínas Animales
Suelen ser incompletas es decir pueden carecer de alguno de los aminoácidos proteinogénicos, y por lo tanto, las proteínas de los cereales suelen ser deficientes en lisina mientras que las que proceden de las leguminosas son deficientes en aminoácidos azufrados, es por ello la importancia del consumir muchos tipos de alimentos combinados cuando la dieta es exclusivamente vegetariana.	Presentan proteínas completas con varios tipos de aminoácidos; tanto globulares como fibrosas, las proteínas globulares son en general solubles en agua y se encuentran en los fluidos corporales, las más importantes son la caseína y la albumina ya que son fácilmente digeribles; las proteínas fibrosas suelen ser insolubles en agua y se encuentran en los tejidos de soporte y protección, la queratina de la piel, el colágeno de los tendones son difíciles de digerir, en cambio la miosina del músculo es más digerible.
El porcentaje promedio de digestión y absorción es de sólo un 60 a un 70% aproximadamente.	El porcentaje promedio de digestión y absorción es alrededor de un 90%.
Los cereales presentan deficiencia en el aminoácido lisina	Presentan deficiencia en el aminoácido esencial metionina
Contienen menos purinas, se filtran y eliminan de una mejor forma	Contienen cantidades altas de purinas, las cuales deben ser disueltas por el hígado y eliminadas por el riñón en forma de ácido úrico. El consumo excesivo de alimentos con purinas es un riesgo en la dieta hiperprotéicas. El riñón puede eliminar hasta 600 mg de purinas al día, siempre que esté sano
Presenta grasas insaturadas	
No presentan colesterol	
Sobrecargan de menor manera el hígado y los riñones	Un exceso en la alimentación se relaciona con un mayor riesgo de osteoporosis ya que el fósforo compite con el calcio disminuyendo su absorción, además debido al contenido en grasas saturadas asociadas existe un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares
Son fáciles de digerir	
Son ideales para dietas bajas en calorías	

Nota: Adaptado de González, Téllez, Sampedro & Nájera, 2007; Mataix & Sánchez, 2009

2.6 Propiedades funcionales de las proteínas

Las propiedades funcionales de las proteínas permiten contribuir a las características deseadas de un alimento. Son varias las propiedades funcionales que intervienen en cada alimento, pueden clasificarse en 3 grupos principales: (Cheftel, Cuq & Lorient, 1989).

1. Propiedades de hidratación: Dependientes de las interacciones proteína agua. Incluye propiedades como (absorción y retención de agua, hinchado, adhesión, dispersibilidad, solubilidad y viscosidad).
2. Propiedades texturales; Dependientes de las interacciones proteína-proteína, y que intervienen en fenómenos tales como la precipitación, la gelificación y la formación de estructuras diferentes.
3. Propiedades superficiales: Están relacionadas con la formación de emulsiones y espumas de las proteínas.

El uso exitoso de fuentes de proteínas vegetales en la formulación de alimentos depende de las propiedades funcionales de la materia prima. En ese sentido, la baja solubilidad de un aislado proteico evidentemente limita su uso en algunos tipos de productos en la industria alimentaria, pero en otros podría favorecerlos. Sin embargo, esta propiedad puede ser modificada por la influencia de varios factores, como el pH, la concentración de sal, la constante dieléctrica del solvente y la temperatura (Bora & Riveiro citado por Rivera Figueroa, 2006).

2.6.1 Relaciones entre las propiedades funcionales y sensoriales

Las propiedades funcionales de las proteínas influyen la adsorción, hidratación y textura de los alimentos, tal como se puede apreciar en la Tabla 11.

Tabla 11

Propiedades funcionales, estado físico y propiedades sensoriales.

PROPIEDADES FUNCIONALES	Estado Físico	Propiedades sensoriales
Adsorción Retención de aromas, Retención de lípidos y Adsorción de agua	Gas	Aroma
Interfasiales Esponjamiento y Emulsificación	Espuma Líquido	Sabor
Hidratación Retención de agua, Solubilidad y Viscosidad	Pasta	Propiedades Kinestésicas
Textura Porosidad, Agregación, Gelificación, Coagulación y Elasticidad	Sólido dispersado Sólido compacto	Tacto Reología Oído

Nota: Adaptado de Linden y Loriet, 1996

2.6.2 Solubilidad

La solubilidad de las proteínas está determinada por tres factores principales: su grado de hidratación, su densidad y distribución de cargas a lo largo de la cadena, y la presencia de compuestos no proteicos como fosfatos, carbohidratos o lípidos que pueden tener un efecto estabilizante (Badui, 2006).

La solubilidad de una proteína varía con el pH, la temperatura, la fuerza iónica y la constante dieléctrica del solvente. La solubilidad disminuye por titulación de las proteínas en su punto isoeléctrico, es decir depende del pH, y se incrementa al aumentar la fuerza iónica, hasta llegar a un valor óptimo (Guerrero Aquino, 1989).

2.6.3 Formación de espuma

La formación de espuma es una propiedad de superficie, donde la proteína actúa como un agente tenso-activo, disminuyendo la tensión superficial en la interface gas-líquido. La formación de espuma con proteínas implica un proceso de desnaturalización controlada; ya que este polímero se tiene que desdoblar para que oriente sus aminoácidos hidrófobos hacia el interior de la burbuja, y los hidrófilos al exterior, en contacto con la fase acuosa. Las propiedades espumantes son expuestas por dos factores denominadas capacidad de formación de espuma y la estabilidad de la espuma. La capacidad de formar espuma se determina midiendo el incremento del volumen por la espuma al introducirse gas en la solución proteica. La estabilidad de la espuma o la velocidad de disminución del volumen de la espuma en el tiempo (Badui, 2006).

Los factores que afectan la formación y estabilidad de las espumas proteicas son la solubilidad y la proporción de difusión a la interface (baja tensión superficial), relacionadas con la hidrofobicidad, orientación y asociación de polipéptidos, alta viscoelasticidad, balance de agregación-coagulación e hidratación (Taboada, 1990); otros factores son los métodos de batido (tipo y tiempo de batido), temperatura, pH, dilución de la proteína (concentración), sal (NaCl), azúcar, aceite, etc. (Townsend & Nakai, 1983).

2.7 Clasificación de los productos de acuerdo a su contenido proteico

2.7.1 Harinas integrales o enteras

La Harina integral o entera a menudo es una mezcla de harina y salvado (FAO, 1989). Se entiende por Harina integral o Harina de Graham, el producto que se obtiene por la molienda del grano de trigo que responda a las exigencias de éste. Según el grado de la

molienda se admiten y distinguen tres tipos: Gruesa, Mediana y Fina. La humedad de estas harinas no será superior a 15,5 g/100 g y las cenizas no mayor de 2,30 g/100 g determinadas en la misma forma establecida en el Artículo 661. Estos productos se rotularán: Harina integral o Harina de Graham. Por debajo y con caracteres semejantes a los empleados en su denominación, la tipificación que les corresponda: Gruesa, Mediana o Fina (Código Alimentario, 2003).

2.7.2 Harinas Refinadas

Desde el punto de vista comercial, la situación es bastante clara; se considera como harinas a productos cuya concentración en proteínas es inferior a 70% (Bourgeois & Roux, 1982).

2.7.3 Concentrado proteico

Se considera como concentrados a aquellos cuya concentración oscile de 70 a 85% (Bourgeois & Roux, 1982). Los concentrados proteicos vegetales resultan de un enriquecimiento del material en su contenido proteínico, mediante una separación paulatina de sus componentes no proteínicos (Lípidos, fibra, carbohidratos, minerales, etc.), de tal manera que sus propiedades nutricionales no se modifiquen ni se pierdan. El proceso de concentrado proteico implica una serie de tratamientos, que aprovechando las propiedades fisicoquímicas de los solventes de extracción (solubilidad, polaridad, fuerza iónica, pH isoeléctrico), permiten separar la proteína (Giese, 1994).

2.7.4 Aislado proteico

Se considera aislado proteico aquel cuyo contenido de proteínas constituyentes sean exactamente las que se encontraban en la fuente orgánica inicial, sin haber sufrido procesos

de degradación o hidrólisis no deseables (Curare, 2006). Según Bourgeois & Roux, 1982 se considera aislados a productos cuya concentración en proteínas exceda de 85%.

Los aislados proteicos son la forma comercial más purificada, que se logran obtener eliminando los polisacáridos, oligosacáridos y algunos otros componentes ya sea por: hidrólisis y posterior precipitación, por adición de ácidos minerales, controlando los diferentes parámetros como: el pH, temperatura, solubilidad y otros, que permiten el enriquecimiento de la proteína requerida. Los aislados proteicos pueden ser utilizados en la elaboración de diferentes productos en la industria alimentaria, tales como productos horneados, bebidas para deportistas, embutidos, alimentos para bebés entre otros. Las proteínas se usan como aditivos en suplementos nutricionales para mejorar el perfil de aminoácidos e incrementar el contenido de proteínas, pero también para aportar beneficios funcionales como emulsificación, estabilización e incremento de viscosidad, mejoramiento de la apariencia, del gusto, la textura y la absorción de agua o aceite (Giese, 1994).

En este sentido, el estudio de las propiedades funcionales son muy importantes para determinar los usos que pueden darse a las proteínas y aislados proteicos en la industria alimentaria (Cheftel et al., 1989).

2.8 Propiedades nutricionales de la proteína de quínoa

Las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos que podrán ser utilizados para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas (Badui, 2006).

2.8.1 Score aminoacídico

Para valorar la calidad de las proteínas se utilizan índices como el coeficiente de eficacia proteica (protein efficiency ratio: PER), coeficiente proteico neto (net protein ratio: NPR), utilización proteica neta (net protein utilization: NPU), digestibilidad proteica (true protein digestibility) y valor biológico de la proteína (protein biological value). Los coeficientes PER de las semillas crudas de quinua oscilan entre 1,95 y 2,33 (Mazza, 2000).

2.8.2 Digestibilidad de la proteína

La digestibilidad de la proteína de quinua se ve mejorada con la molienda y cocción previa de los granos, sin embargo el germen del grano de quinua es poco afectado por la cocción y de muy difícil digestibilidad (López de Romaña, Grabam, Rojas & MacLean, 1981). Cuando se cuece la quínoa el coeficiente PER alcanza el 100%, un valor equivalente al de la caseína. La digestibilidad proteica es muy alta (91,7-92,1%), mientras que la utilización proteica neta y el valor biológico de la proteína son entre moderados y altos (75,7% y 82,6%). Las semillas procesadas de quinua pueden contribuir a una dieta más equilibrada desde el punto de vista nutritivo, con posibles efectos beneficiosos para la salud (Mazza, 2000).

2.8.3 Quinua considerada libre de gluten

Según el Codex alimentarius (2009), la quinua se considera libre de gluten porque contiene menos de 20mg/kg, lo que es de utilidad para alérgicos al gluten. El consumo periódico de quinua ayuda a los celíacos para que recuperen la normalidad de las vellosidades intestinales de forma mucho más rápida que con la simple dieta sin gluten.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

La investigación se ejecutó en los laboratorios de Ciencia y Tecnología de Alimentos, en el Centro de investigación de Ciencias Alimentarias (CICAL), y en el laboratorio de Procesos pertenecientes a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión (Km 19.5 Carretera Central, Ñaña-Lima).

3.2 Materiales e insumos

3.2.1 Materia prima

Los granos de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad Collana adquiridos procedieron de la estación agronómica experimental INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria) ubicado en la localidad de Juliaca (Departamento de Puno, Perú), recolectados en Marzo del 2014, presentaron un índice de acidez de 0.0564 % y 5.86 de pH. Se separó la cascara de la semilla manualmente, las semillas de quinua fueron trituradas utilizando un molino de martillos, el producto molido fue clasificado por tamaño de partícula utilizando un juego de tamices vibratorios (INNOVA, Perú) seleccionando las partículas que atravesaron una malla N° 80 (ancho de abertura 0.22 mm). La harina de quinua negra fue almacenada en bolsas de propietileno hasta la extracción de aceite y posteriormente para la obtención de aislado proteico.

3.2.2 Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH) 1N
- Ácido Clorhídrico (HCl) 1 N y 0.05N
- Éter de petróleo (98%)
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) (97.1%)
- Ácido bórico (H₃BO₃) 4%

3.2.3 Materiales

- Beakers de 600 ml
- Placas Petri
- Tubos de ensayo
- Fiolas
- Soporte universal
- Pipetas de 1 y 10 ml
- Pipeteador
- Probetas de 250 ml

3.2.4 Equipos

- Balanza Electrónica (Henkel, Hen-0.01-1000, 1000 g.)
- Molino de martillos (Innova)
- pH-Metro (Termofix, pH 009 (II))
- Centrífuga (Greetmed, GT119-200)

- Secador de Bandejas (INNOVA, QB-60)
- Termómetro Digital (Barbecue, -50 °C to 300 °C)
- Agitador (MJK, TyRM N°2051, 25-2000 rpm)
- Hornillas (CAT, M6/1, 0-250°C)
- Sellador (Oster, VAC 420-51, 50Hz; 0,45 A)
- Tamizador vibratorios (Innova, Perú)
- Campana Extractora (Innova, Perú)
- Digestor (NOVA, Perú)
- Micro-Kjendahl (0-25ml)
- Extractor (adaptado de Sosa, 2000) (Anexo 15)
- Extractor Soxhlet

3.3 Métodos de análisis

3.3.1 Análisis de la materia prima

Los granos de quinua negra variedad collana fueron molidos y con la harina integral se procedió a realizar el análisis proximal.

3.3.1.1 Análisis proximal

Se ejecutaron los análisis mediante los métodos de la American Association Of cereal Chemists 10th Edition, de humedad, cenizas totales, grasa cruda, proteína cruda; fibra cruda mediante la AACC 2000 - 44 - 19; 08 - 01; 30 - 25; 46 - 13; 32 - 10; el contenido de carbohidratos se determinó por diferencia MS-INN Collazos 1993, estos métodos se muestran en los anexos 1-7 respectivamente.

3.3.1.2 Análisis del aislado proteico

Se ejecutaron los análisis para el aislado proteico mediante los métodos de la American Association Of cereal Chemists 10th Edition, de humedad, del contenido de proteína, de solubilidad y pureza mediante la AACC 2000 - 44-19; 46 -13; mediante el método descrito por Tan, Koopal, Weng, Van, Riemsdijk & Norde, 2008, estos métodos se muestran en los anexos 1, 5 y 10 respectivamente.

3.4 Metodología experimental

La ejecución de la presente investigación se realizó en 3 etapas siguientes:

- Caracterización fisicoquímica de la harina integral de quinua negra variedad Collana (*Chenopodium quinoa Willdenow*)
- Obtención del aislado proteico
- Caracterización del aislado proteico

Las cuales se esquematizan en la Figura 8.

3.4.1 Evaluación de los parámetros

El diagrama de flujo de esta etapa se muestra en la Figura 8 donde T y pH representan los niveles de la temperatura y pH respectivamente (se indica la existencia de tres niveles por cada una de las variables independientes, para pH 8, 9 y 10 y para la temperatura 20, 25 y 30).

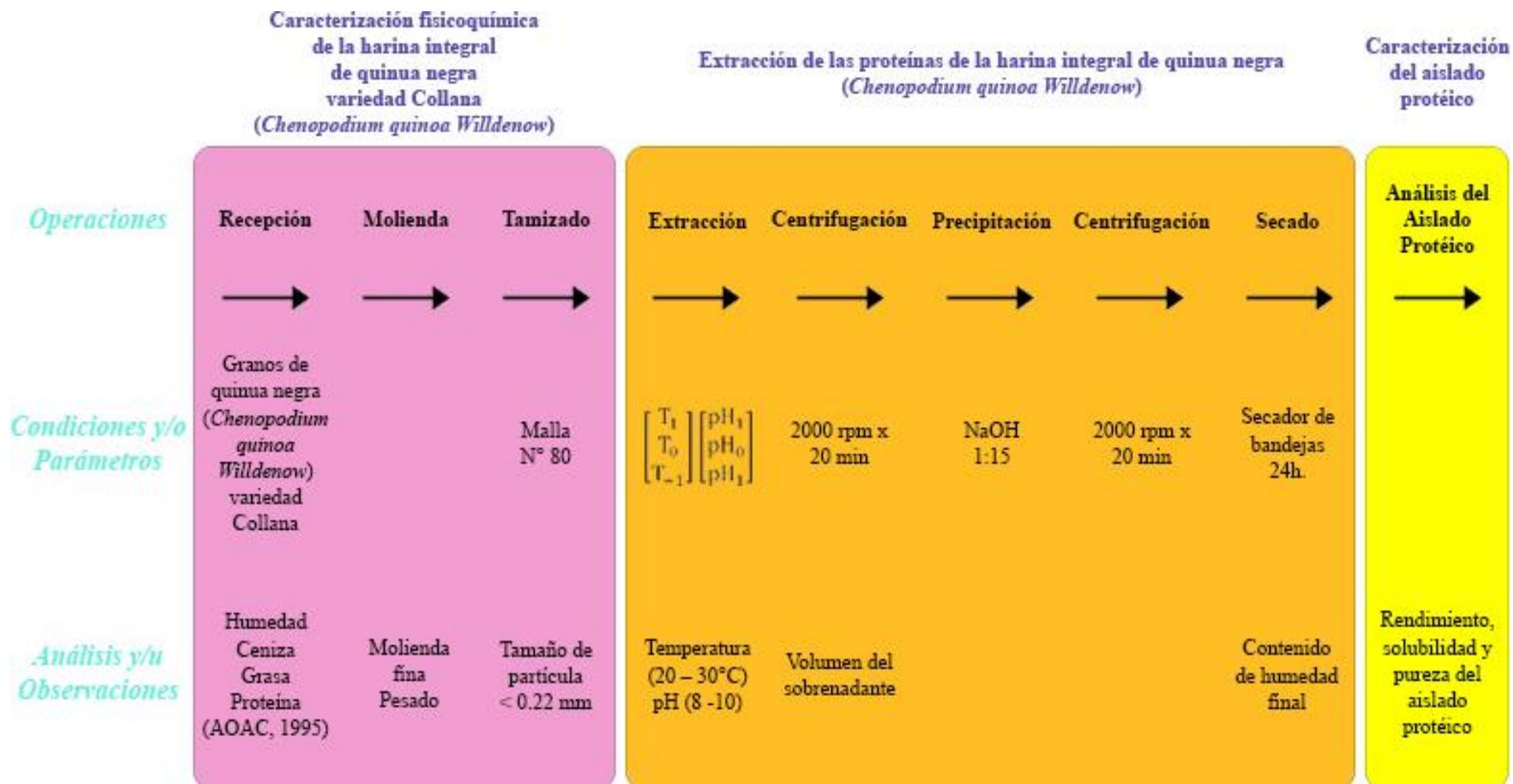


Figura 8. Esquema general de la investigación

3.4.1.1 Obtención del aislado proteico

La harina obtenida de las semillas de quinua negra fue desgrasada por el método soxhlet con una solución de éter de petróleo, el producto obtenido fue secado, pesado y suspendido en relación harina : agua destilada = 1 : 15 (para evitar la formación de grumos), el medio acuoso fue llevado a las condiciones de temperatura y pH requeridas para cada ensayo. Se ejecutaron ensayos bajo diferentes condiciones teniendo como variables independientes la temperatura (20 – 30 °C), y pH (8 - 10). Se mantuvo una variación de temperatura de ± 2 °C, como se aprecia en la Figura 8 y 9.

Para cada ensayo se utilizaron 10 g de harina molida con un tamaño de partícula de 80 μm y 150 ml de agua destilada, luego en el medio acuoso se realizó la primera extracción alcalina con NaOH 1N, utilizando un agitador para homogenizar la muestra durante 1 h. hasta estabilizar el pH a (8 - 10) y la temperatura a (20 – 30 °C) cada 15 min. Luego el medio acuoso se filtró, y se llevó a la centrifugadora a 2000 rpm por 20 min., se separó el primer sobrenadante del primer precipitado, el sobrenadante se almacenó en un vaso precipitado, luego por segunda vez el sobrenadante obtenido se lleva a una extracción alcalina donde se procedió a precipitar la proteína mediante precipitación isoeléctrica (PI) a punto isoeléctrico 3, 4 y 5, seguidamente se llevó a la centrifugadora a 2000 rpm por 20 min. Finalmente el precipitado de la proteína se procede a secar a una temperatura de 40 °C por 24 h, como se aprecia en la Figura 9.

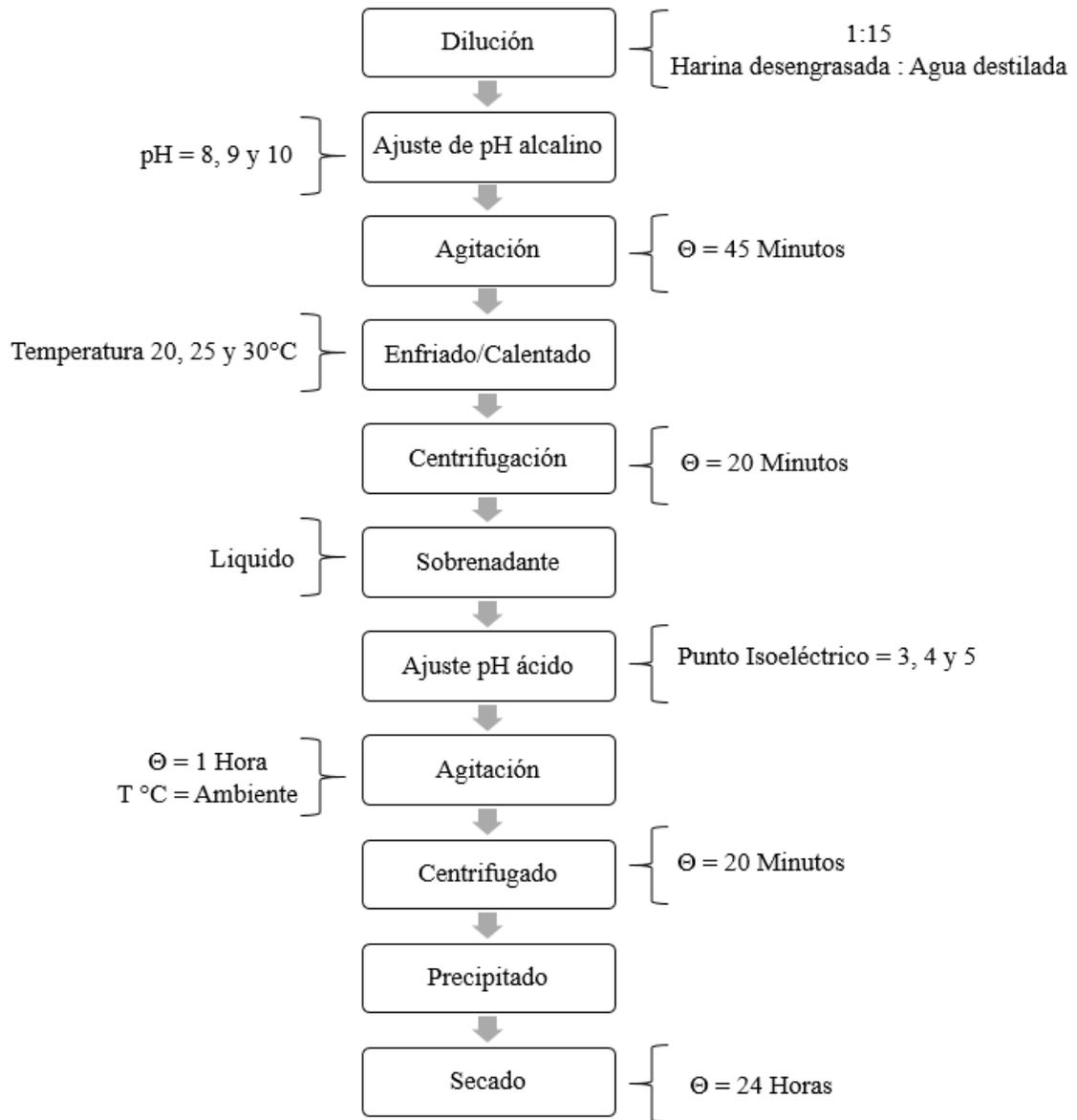


Figura 9. Flujo de operaciones para la obtención de aislado proteico proveniente de granos de quinua variedad negra collana (*Chenopodium quinoa Willdenow*)

3.5 Diseño Estadístico

El rendimiento del aislado proteico se evaluará mediante un Diseño Central Compuesto teniendo como variables independientes (Factores): La temperatura y el pH. Para los cálculos estadísticos las variables fueron codificadas de acuerdo a la Ecuación 1.

Ecuación 1. Codificación de las variables

$$x_1 = \frac{X_1 - X_0}{\Delta X_1}$$

Donde:

x_i = Valor de la variable independiente codificada.

X_i = Valor real de la variable independiente.

X_0 = Valor real de la variable independiente en el punto central.

ΔX_i = Incremento de la variable independiente entre el punto central y el punto +1.

Se trabajó con cinco niveles para cada variable independiente, los valores naturales y codificados de cada variable se muestran en la Tabla 12.

El Diseño Central Compuesto consta de 11 puntos experimentales (8 puntos factoriales, 3 puntos centrales) mostrados en la Tabla 13.

Tabla 12

Niveles codificados de las variables independientes para la evaluación

Niveles	Variable	
	pH	Temperatura (°C)
-1	8	20
0	9	25
1	10	30

Tabla 13

Diseño Central Compuesto para la obtención del aislado proteico de quinua negra

Tratamientos	Variables Independientes		Variables Dependientes		
	A	B	Rendimiento (%)	Pureza (%)	Solubilidad (%)
1	-1	-1	R ₁	P ₁	S ₁
2	-1	0	R ₂	P ₂	S ₂
3	-1	1	R ₃	P ₃	S ₃
4	0	-1	R ₄	P ₄	S ₄
5	0	0	R ₅	P ₅	S ₅
6	0	1	R ₆	P ₆	S ₆
7	1	-1	R ₇	P ₇	S ₇
8	1	0	R ₈	P ₈	S ₈
9	1	1	R ₉	P ₉	S ₉
10	0	0	R ₁₀	P ₁₀	S ₁₀
11	0	0	R ₁₁	P ₁₁	S ₁₁

Las variables dependientes a evaluar fueron el rendimiento, la solubilidad y la pureza del aislado proteico. Los parámetros óptimos de extracción fueron aquellos que generaron un mayor rendimiento (Montgomery, 2004).

Los resultados del Diseño Central Compuesto fueron analizados en el programa STATISTICA versión 7.0 (StatSoft, Inc. 2004). Para evaluar el ajuste del modelo de regresión para cada variable dependiente se determinó el coeficiente de correlación o la variabilidad explicada (R^2), el coeficiente de correlación ajustado (R^2_{ajuste}) y la prueba de falta de ajuste utilizando el mismo software.

Se generó el análisis de varianza para determinar los términos del modelo y los factores significativos sobre cada variable dependiente (rendimiento, solubilidad y pureza), reportando los valores de los grados de libertad, suma de cuadrados y de p , utilizando una significancia (α) de 0.05 (error al 5%). También se determinó los coeficientes de la ecuación 2, reportando el valor de p de cada coeficiente para juzgar su significancia al 0.05.

El estudio de la influencia de cada variable independiente sobre las respuestas así como la ubicación del punto óptimo se llevó a cabo con la construcción de la superficie de respuesta y diagramas de contorno para cada variable dependiente. Estos gráficos fueron generados por el mismo software STATISTICA versión 7.0 (StatSoft, Inc. 2004).

4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Caracterización de la materia prima

En la Tabla 14 se pueden observar los resultados de la composición proximal de la materia prima harina de quinua negra variedad collana. El contenido de humedad fue de 12.61 %, siendo este congruente con lo registrado por Diaz & Rivera (1980) quienes reportan 12.5 % para la variedad kancolla, así mismo Guerrero (1989) reporto un contenido de humedad de 11.6 %, mencionando que el contenido de humedad evidencia el manejo post-cosecha previo al almacenamiento así como también el periodo y condiciones de almacenaje de los granos de quinua.

El contenido de cenizas totales expresado en base seca para la harina integral de quinua negra variedad collana fue de 2.61 %, este registro es ligeramente inferior al reportado por Guerrero (1989) el cual encontró un 3.1 % de ceniza en base seca. Niveles superiores del contenido de ceniza reflejan la riqueza mineral tales como hierro y calcio (Repo-Carrasco, Espinoza & Jacobsen, 2003) quienes reportan valores de 94 y 16.8 mg de calcio y hierro por cada 100 gramos de muestra (Tabla 5).

El contenido de grasa cruda expresado en base seca para la quinua negra variedad collana fue de 3.43 %, este contenido es relativamente bajo si lo comparamos con lo reportado por diferentes investigadores citados a continuación: Diaz & Rivera (1980) reportan 6.22 %; así mismo Guerrero (1989) reporta un 6.2 % de grasa en base seca, por otro lado Scarpati & Briceño (1980) encontraron un 5.7 %, y Tapia et. al. (1979) encontraron un 5.74 %, estos últimos autores indican que el contenido de grasa en la quinua es alto y se cree que es una razón para una más lenta digestión.

El contenido de proteína cruda expresado en base seca en la harina de quinua negra variedad collana fue de 8.34 %. Este porcentaje muestra una diferencia notable a lo reportado por los siguientes investigadores, Guerrero (1989) reportó 13.5 % en base seca del contenido de proteína, según la FAO (1970) menciona que el contenido proteico para el grano de quinua es de 13.6 %, Bruin (1964) encontró 14 % para la quinua amarilla. Estas diferencias en el contenido de proteína cruda pueden explicarse en las diferentes variedades de la especie y su interacción con el clima donde fueron cultivadas.

La cantidad de fibra cruda expresada en base seca para la harina de quinua negra variedad collana es de 2.21 %. Este resultado no muestra una gran diferencia con lo registrado por Guerrero (1989) quien reportó 1.9 % de fibra en sus resultados obtenidos.

En tanto, el contenido de carbohidratos obtenido es de 73.01 %, coincide con el valor reportado por Tapia et al. (1979) quienes encontraron un nivel de 75.3 % en base seca, encontrando mayor porcentaje en el perisperma, este es uno de los principales constituyentes del grano que expresan el contenido de almidón principalmente y azúcares, mientras que Scarpati y Briceño (1980) mencionaron como nifex 73.5 % y Romero (1981) encontró para la variedad kancolla 80.4 % en base seca.

Tabla 14

Composición proximal de la harina de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*)
variedad Collana sin lavar

Componente	Valores	Unidades
Humedad	12.61	g/100g de muestra
Cenizas Totales	2.61	g/100g de muestra b.s.
Grasa Cruda	3.43	g/100g de muestra b.s.
Proteína Cruda	8.34	g/100g de muestra b.s.
Fibra Cruda	2.21	g/100g de muestra b.s.
Carbohidratos	73.01	g/100g de muestra b.s.
Energía Total	356.27	Kcal

Donde: b.s: base seca

4.2 Evaluación de los parámetros del aislado proteico de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*)

4.2.1 Análisis estadístico

Se analizaron los efectos de las variables dependientes (rendimiento del aislado proteico, la pureza del contenido de proteína, el parámetro de solubilidad y la humedad) según los resultados del diseño central compuesto mostrado en la Tabla 15.

El método de superficie de respuesta generó una regresión polinomial para cada variable dependiente, la cual posee términos lineales, cuadráticos y de interacción; mediante el análisis de varianza se determinó el efecto de estos grupos de términos para los puntos isoeléctricos 3, 4 y 5 (Tabla 15, Tabla 16 y Tabla 17) así como de los factores de temperatura y pH sobre las variables respuestas (Tabla 19, Tabla 20 y Tabla 21).

Se obtuvieron valores de R^2 mayores a 0.90 para los modelos de regresión de las variables rendimiento ($R^2 = 0.974$) y solubilidad ($R^2 = 0.959$), mientras que en pureza los valores de R^2 fueron menores a 0.90; pureza ($R^2 = 0.558$), para el punto isoelectrico 3; además para los valores de R^2 los modelos de regresión del punto isoelectrico 4 fueron menores a 0.90 para la variables solubilidad ($R^2 = 0.512$), pureza ($R^2 = 0.700$); mientras que para el rendimiento el valor R^2 fue mayor ($R^2 = 0.933$), y para punto isoelectrico 5 los modelos de regresión de las variables fueron para rendimiento ($R^2 = 0.983$), solubilidad ($R^2 = 0.915$) y pureza ($R^2 = 0.946$). El coeficiente R^2 es definida como la relación de la variación explicada a la variación total; según Joglekar & May, citados por Sin, Yosof, Sheikh & Rahman (2006) un valor de R^2 superior a 0.8 indica que el modelo de regresión describe adecuadamente la variación de la variable respuesta.

4.2.2 Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad collana evaluando el rendimiento a tres puntos isoelectricos (3, 4 y 5)

En la Tabla 15 se aprecian los resultados provenientes de la interacción de pH (8, 9 y 10) y temperatura (20, 25 y 30 °C) durante el proceso de extracción de proteína obteniéndose una alta variabilidad de rendimientos los cuales fluctúan entre 94.62 % y 3.307 % esta alta variabilidad obedece a los tres niveles de puntos isoelectricos (3, 4 y 5) lo cual coincide con lo afirmado por Creighton, 1993 que el pH influye en la conformación de las proteínas en gran medida, como la ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos cargados que son dependientes del pH. Esto promueve la agregación o repulsión de las cadenas de aminoácidos lo cual se ve reflejado en la variabilidad de rendimientos

El máximo rendimiento de proteínas corresponde al ensayo 1 ejecutado a pH 8 y temperatura 20 °C (94.622 %) del punto isoeléctrico 3, estos resultados son congruentes con lo reportado por Rhee, Cater & Mattil (1972) cuando estudio la extracción de proteínas de semilla de algodón a diferentes niveles de pH precisando la máxima extracción a pH 8 durante el proceso de extracción alcanzando un rendimiento del 99%.

El análisis de varianza presentado para el rendimiento, se muestra en la Tabla 16 donde se visualizan que existen diferencias significativas entre todos los factores principales (pH y temperatura), sin embargo la interacción de ellos carece de influencia en el rendimiento, por lo cual las variaciones en el rendimiento de la extracción de proteínas obedecen a los puntos isoeléctricos finales obteniéndose el mayor rendimiento al punto isoeléctrico 3.

En las Tablas 17 y 18 para los puntos isoeléctricos 4 y 5 se encuentran el análisis de varianza presentado para el rendimiento, donde se visualizan que existen diferencias significativas entre todos los factores principales (pH y temperatura), y los efectos de la interacción de estos factores, es decir influyen en el rendimiento de la extracción de proteína de la harina integral de quinua negra. Sin embargo se obtuvo como rendimientos máximos (79.738 % y 50.459 %) para los puntos isoeléctricos 4 y 5 respectivamente, los mismos que fueron evaluados durante la extracción para un pH de 8 y temperatura de 20 °C como se observa en la Tabla 15.

4.2.3 Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad collana evaluando la solubilidad a tres puntos isoeléctricos (3, 4 y 5)

En la Tabla 15 se aprecian los resultados provenientes de la interacción de pH (8, 9 y 10) y temperatura (20, 25 y 30 °C) durante el proceso de extracción de proteína obteniéndose

una alta variabilidad de solubilidad los cuales fluctúan entre 12.994 % y 0.423 % esta alta variabilidad obedece a los tres niveles de puntos isoeléctricos (3, 4 y 5) lo cual coincide con lo afirmado por Creighton (1993) que el pH influye en la conformación de las proteínas en gran medida, como la ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos cargados que son dependientes del pH. Esto promueve la agregación o repulsión de las cadenas de aminoácidos lo cual se ve reflejado en la variabilidad de rendimientos.

En la Tabla 15 se muestran los registros de solubilidad a tres puntos isoeléctricos 3, 4 y 5 de la proteína extraída mediante el proceso de interacción a pH 8, 9 y 10 y a temperatura 20, 25 y 30 °C durante el proceso de extracción con agitación durante 45 minutos observado en la Figura 9, obteniendo una alta variabilidad como consecuencia de someter a diferentes tratamientos, esto se corrobora con lo afirmado por Föste, Elgeti, Brunner, Jekle, & Becker (2015) quienes mencionan que la solubilidad de las proteínas depende del estado físico-químico de las moléculas, que pueden ser favorable o desfavorables al ser afectadas por los tratamientos de procesamiento tales como calentamiento o secado durante el procesamiento y almacenamiento. Otros factores son las relaciones de los grupos polares y no polares, tales como la estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de la proteína.

Tabla 15

Resultados del diseño central compuesto

pH	Temperatura	Rendimiento P.I. (3) % (g/100 peso seco)	Rendimiento P.I. (4) % (g/100 peso seco)	Rendimiento P.I. (5) % (g/100 peso seco)	Solubilidad P.I. (3)	Solubilidad P.I. (4)	Solubilidad P.I. (5)	Pureza P.I. (3)	Pureza P.I. (4)	Pureza P.I. (5)
-1 (8)	-1 (20)	94.622	79.738	50.459	12.994	11.370	37.616	30.413	15.690	35.561
-1 (8)	0 (25)	58.015	37.287	20.837	2.906	10.259	20.978	21.792	14.006	19.277
-1 (8)	1 (30)	54.796	18.430	6.210	1.227	6.400	6.484	18.319	9.700	16.413
0 (9)	-1 (20)	42.137	63.834	45.533	9.450	12.435	14.890	39.752	23.964	29.934
0 (9)	0 (25)	27.12	22.959	6.964	2.641	3.396	10.942	26.222	23.695	21.073
0 (9)	1 (30)	19.411	20.664	3.307	1.828	0.522	2.984	1.676	10.655	24.067
1 (10)	-1 (20)	15.071	54.131	36.03	4.642	0.423	12.766	26.940	11.979	19.416
1 (10)	0 (25)	15.103	37.244	4.466	2.730	3.343	12.269	36.519	26.112	25.503
1 (10)	1 (30)	9.210	16.763	4.316	1.550	8.621	2.395	55.557	30.005	32.800
0 (9)	0 (25)	18.725	13.924	7.224	3.736	2.669	4.270	28.976	22.876	22.989
0 (9)	0 (25)	19.255	21.886	5.270	3.126	9.826	2.233	28.497	19.171	23.588

Tabla 16

Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoelectrico 3

Fuente de variación	°gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		^b SS	p	SS	p	SS	p
pH (L)	1	4706.744	0.004663	11.2203	0.025798	391.912	0.005479
pH (Q)	1	4706.744	0.043495	0.5076	0.323693	122.732	0.017186
T°C (L)	1	4706.744	0.027184	84.2326	0.003555	77.422	0.026842
T°C (Q)	1	4706.744	0.115689	14.2703	0.020452	5.558	0.250279
Interacción	1	288.405	0.068820	18.8139	0.015628	414.346	0.005184
Falta de ajuste	3	131.877	0.351842	4.9456	0.158301	791.430	0.008151
Error Puro	2	44.205		0.6021		4.330	
TOTAL	10	6791.267		134.1784		1802.556	
Variabilidad explica (R ²)			0.974		0.958		0.558
R ² Ajustado (R ² _{Ajust})			0.948		0.917		0.117

Donde: ^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

Tabla 17

Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoelectrico 4

Fuente de variación	gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		^b SS	p	SS	p	SS	p
pH (L)	1	124.370	0.152353	40.7787	0.246433	137.2817	0.039816
pH (Q)	1	177.963	0.113966	1.7488	0.769030	3.2003	0.535332
T°C (L)	1	3353.381	0.007187	12.5715	0.463051	0.2701	0.849293
T°C (Q)	1	452.509	0.049848	0.6546	0.856265	38.0091	0.124877
Interacción	1	143.281	0.136154	43.3491	0.236589	144.1921	0.038015
Falta de ajuste	3	271.240	0.219494	64.1990	0.446491	130.5657	0.120060
Error Puro	2	48.725		31.0320		11.6215	
TOTAL	10	4782.669		195.1320		474.6275	
Variabilidad explica (R²)			0.933		0.512		0.700
R² Ajustado (R²_{Ajust})			0.866		0.023		0.400

Donde: ^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

Tabla 18

Análisis de varianza de los términos lineales, cuadráticos y de interacción en los modelos de regresión para el punto isoelectrico 5

Fuente de variación	gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		^b SS	p	SS	p	SS	p
pH (L)	1	178.150	0.006261	236.229	0.077741	6.9725	0.182151
pH (Q)	1	20.332	0.051162	170.908	0.103001	0.8445	0.556639
T°C (L)	1	2328.107	0.000483	475.420	0.040985	22.5467	0.068746
T°C (Q)	1	540.116	0.002078	0.704	0.870858	41.2076	0.039422
Interacción	1	39.282	0.027486	107.755	0.150333	264.5828	0.006460
Falta de ajuste	3	53.791	0.059660	52.494	0.582662	15.7909	0.256613
Error Puro	2	2.252		41.504		3.4517	
TOTAL	10	3265.103		1104.449		355.2289	
Variabilidad explica (R ²)			0.983		0.915		0.946
R ² Ajustado (R ² _{Ajust})			0.966		0.829		0.891

Donde: ^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

En la Tabla 15 se observa que la solubilidad esta en relación directa al incremento del punto isoeléctrico (37.616 %) para pH 8 y temperatura 20 °C, esto es congruente con lo referenciado por Aceituno, Lopez, Mendoza & Lagaron (2013) quienes estudiaron la solubilidad de las proteínas de amaranto a varios valores de pH y caracterizaron una mínima solubilidad alrededor del punto medio isoeléctrico entre 4.5 y 6.5.

4.2.4 Determinación del efecto de la utilización del pH y temperatura, en la extracción de proteínas de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad collana evaluando la pureza a tres puntos isoeléctricos (3, 4 y 5)

En la Tabla 15 se ha registrado la pureza del aislado proteico, el cual fue extraído por la interacción de pH 8, 9 y 10 y a temperatura 20, 25 y 30 °C, los cuales registran alta variabilidad siendo el mayor 55.557 % y el menor 1.676 % esto es congruente con lo reportado por Föste et, al., (2015) quienes trabajaron una extracción a pH 10 y evaluaron en un rango de puntos isoeléctricos entre 2 a 6 con quinua orgánica Royal (*Chenopodium quinoa*) de Bolivia obteniendo una pureza de 58.8 % el cual fue evaluado a un punto isoeléctrico de 4.

4.2.5 Influencia de las variables de estudio

4.2.5.1 Influencia sobre el rendimiento del contenido de proteína

En la Figura 10 se muestran las superficies de respuesta del rendimiento de proteínas en función de la temperatura y pH para el punto isoeléctrico 3, 4 y 5.

La temperatura fue la variable que ejerció mayor influencia sobre el rendimiento, cuando se ajusta el pH de la extracción a un punto isoeléctrico 3, el rendimiento aumenta a pH 8 y temperatura 20 °C, mientras que para los puntos isoeléctricos 4 y 5, el pH 8 de la

extracción fue la variable que obtuvo una mayor influencia sobre el rendimiento de la extracción, esto es congruente con lo afirmado por Belitz & Grosch (1997) quienes afirman que las proteínas son más estables a pH's ácidos, por lo que para incrementar el rendimiento se debe trabajar a pH's básicos superiores a 8; así mismo Rivera Figueroa (2006) menciona que el contenido de proteínas mayor, se encuentra a un pH mayor, siendo que a pH a 11 para la extracción logra un rendimiento de 83,5 % de proteína en base seca.

En los ensayos del punto isoelectrico 4 y 5 se observa que a mayor pH existe un aumento de rendimiento proteico (Figura 10), lo cual es congruente con lo mencionado por Callisaya & Alvarado (2009) quienes mencionan que los altos contenidos de porcentaje de proteínas en aislados proteicos se obtienen a pH mayor de 10,5 en la extracción, mientras que se puede obtener mínimos rendimientos a pH menor a pH 7,5; por lo tanto el rendimiento del aislado proteico es directamente proporcional en la variación del pH.

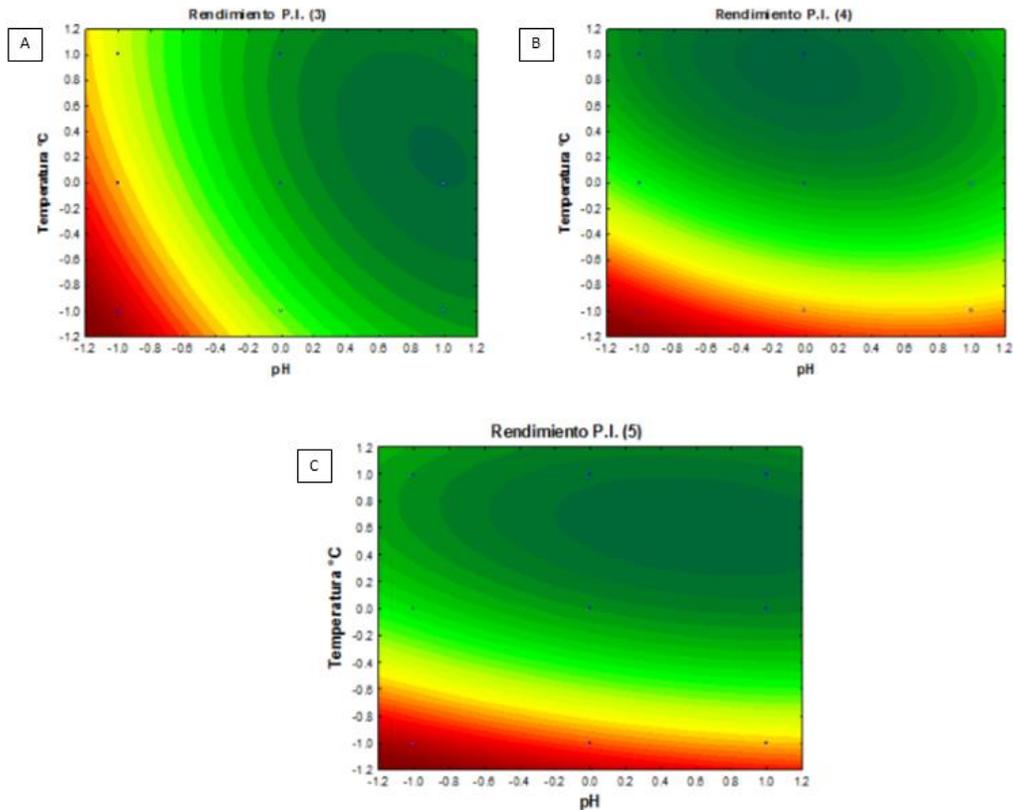


Figura 10. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas en función de la temperatura y pH

Rendimientos altos en aislados proteicos fueron reportados por Silva (2006) quien indica que el contenido de proteína hallado de quinua orgánica de la región de Chile a pH 11 fue de 83,5 % expresado en base seca; mientras que otra investigación para el amaranto obtuvo un aislado proteico con similares resultados con un contenido de proteínas de 82,2 % (Abugoch, 2006), dichas investigaciones corroboran lo encontrado en la Figura 10 para el punto isoeléctrico 3.

En la Figura 10 se observa que a medida que aumenta la temperatura (20, 25 y 30 °C) el rendimiento disminuye, también se observa que a temperaturas altas para puntos isoeléctricos altos se obtienen valores de rendimientos menores siendo para el rendimiento

del punto isoeléctrico 5 de 6.210 %, estos valores son congruentes con lo expresado por Callisaya & Alvarado (2009) los cuales mencionan que el rendimiento de la proteína se ve afectada por el efecto de la temperatura ya que esta es dependiente, obteniéndose rendimientos óptimos a temperaturas de 40 °C siendo temperaturas menores y rendimientos bajos a una temperatura de 70 °C.

Callisaya & Alvarado (2009) obtuvieron en todos sus resultados aislados proteicos superiores a 80% en base seca; mientras que para el aislado proteico de quinua intinaira variedad Kallutaca el rendimiento del contenido proteico fue de 85,22 % expresado en base seca y el resultado para la variedad Taraco de la quinua Surumi fue de 83,44 % expresado en base seca, mientras que el aislado proteico de cañihua beige variedad taraco analizado el resultado de la proteína en base seca fue de 82,35 %.

Guerreo, Pedreschi. & Chirinos (2015) mencionan que las variables que presentan efectos principales en la extracción de la proteína son el pH y el cociente solvente quinua y recomienda que los parámetros adecuados para pH y relación solvente masa es 11 con 19.6 : 1, agua : quinua respectivamente, para obtener un rendimiento de 76.3 % de proteína.

4.2.5.2 Influencia en la solubilidad

En la Figura 11 se muestran las superficies de respuesta para la solubilidad del punto isoeléctrico 3, 4 y 5, se muestran que el pH fue la variable que ejerció mayor influencia sobre la solubilidad, ya que a medida que el pH en la extracción aumenta el pH (8-10) disminuye pero a medida que los puntos isoeléctricos aumentan (3, 4 y 5) la solubilidad aumenta; sin embargo para foster et, al. (2015) afirma que incrementos en el pH entre 7 y 10 incrementan la solubilidad del aislado de quinua Royal boliviana sin embargo a partir del pH 10, 11 y 12 la solubilidad se mantiene. Estas variaciones en la solubilidad se explica por lo afirmado por

Abugoch, (2006) quien menciona que las variaciones de solubilidad con el pH, tienen que ver con la modificación de la carga neta de las proteínas y por lo tanto con su balance electrostático; en la zona cercana a su punto isoeléctrico (pI), la carga neta de las proteínas tiende a 0 y la variación de la solubilidad es mínima debido al aumento de la atracción entre las moléculas. Del lado alcalino al pI las proteínas tendrán una carga neta negativa y probablemente mayor que la carga neta positiva que se presenta en medio ácido, de este modo las fuerzas repulsivas a pH's alcalinos y ácidos extremos serán más importantes que las fuerzas de atracción aumentando la solubilidad así mismo Oshodi, Ogungbenle & Oladimeji, (1999) y Ogungbenle (2003) mencionan que de acuerdo a esto el punto isoeléctrico de las proteínas de quinua estaría entre los pH 3 y 4.

Rivera Figueroa (2006) indica que la solubilidad de los aislados proteicos de quinua en función del pH 3 y 4 (pH ácidos) es mínima (7,6 % y 11,3 %); mientras que para un pH 5 (76,6 %) hasta el pH 11, la solubilidad que obtuvo fue mayor, siendo la más óptima a pH 11 que representa un 94,6 %; Ogungbenle citado por Rivera Figueroa (2006) investigó la solubilidad en función al pH de la harina de quinua y menciona que a pH 6 obtiene un mínimo de 15% y a pH 10 un máximo de 50 % en cuanto a solubilidad; mientras que las solubilidades del aislado proteico de pH 5 al 7 (pHs normales en alimentos) son muy superiores a las solubilidades obtenidas por las proteínas de la harina de quinua, ya que los resultados para el aislado prácticamente quintuplican los de la harina. Y con los datos obtenidos se demuestra que la propiedad de la quinua mejora en la extracción del aislado proteico.

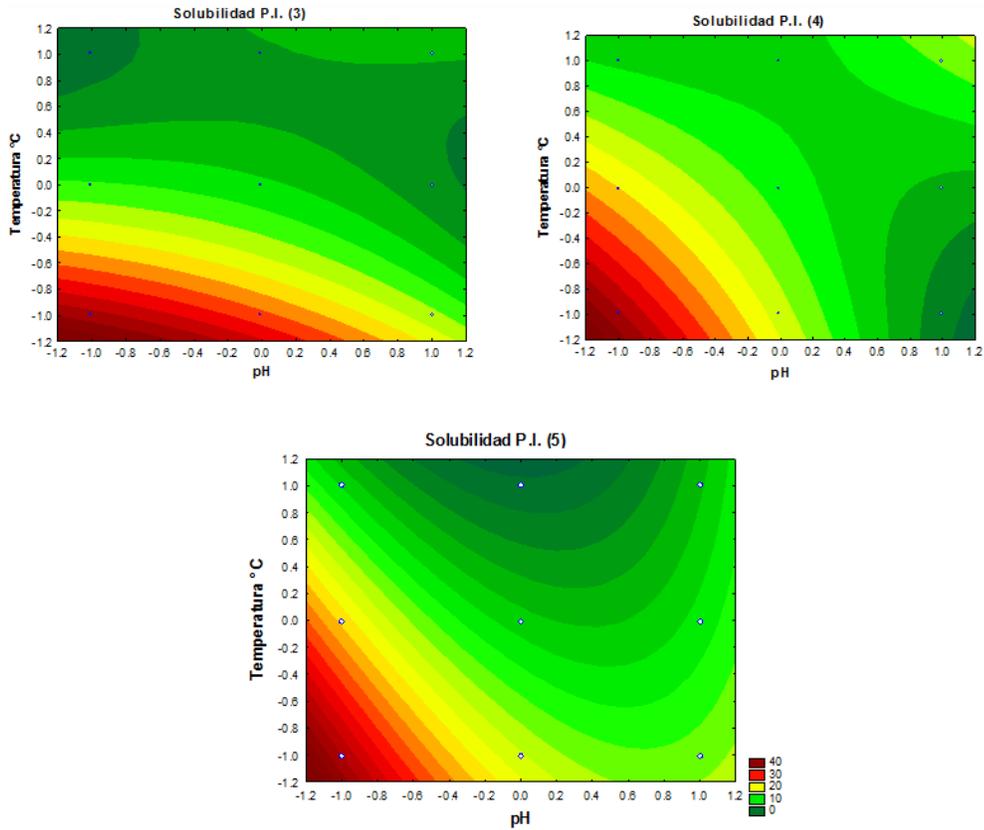


Figura 11. Superficies de respuesta de la solubilidad en función del pH y la temperatura considerando los valores codificados

La máxima solubilidad encontrada corresponde al ensayo 1 del punto isoeléctrico 5 a temperatura 20 °C y a pH 8, siendo la temperatura y el pH mínimo del diseño de la misma manera ocurre con las variables mínimas de la solubilidad del punto isoeléctrico 3 y 4 (Tabla 15).

Cuando la temperatura en la extracción es baja la solubilidad aumenta para el punto isoeléctrico 3, así mismo para el punto isoeléctrico 4 y 5 mientras que cuando la temperatura para la extracción aumenta la solubilidad disminuye para los puntos isoeléctricos 4 y 5, mientras que Foster et, al., (2015) mencionan que incrementos de temperatura en la extracción de 20 a 50 no tienen un efecto en el incremento o decremento en la solubilidad

del aislado de quinua Royal boliviana por otra parte Callisaya & Alvarado (2009) mencionan que la solubilidad de los aislados proteicos de quinua aumentan en función de la temperatura de extracción (35 °C – 45 °C), pero con temperaturas superiores a 45 °C la solubilidad disminuye, además ocurre la desnaturalización de las proteínas; mientras que para la solubilidad de los aislados proteicos en función del pH menciona que a pH 2,5 y 3,5 la solubilidad es moderada, para pH 4,5 la solubilidad es mínima; a pH 5,5; 6,5 y 7,5 la solubilidad es mayor; mientras que Silva (2006) señala en sus resultados que a pH 11 para la extracción encuentra un mayor contenido de solubilidad y una mínima solubilidad obtiene a pH menor siendo pH 3, también menciona que una mayor solubilidad se encuentra desde el pH 8 hasta el 11 oscilando entre 31,9 – 41,4 %, esto implica que el aislado proteico a pH 11 podría ser utilizado en bebidas carbonatadas.

El uso exitoso de fuentes de proteínas vegetales en la formulación de alimentos depende de las propiedades funcionales de la materia prima. En ese sentido, la baja solubilidad de un aislado proteico evidentemente limita su uso en algunos tipos de productos en la industria alimentaria, pero en otros podría favorecerlos. Sin embargo, esta propiedad puede ser modificada por la influencia de varios factores, como el pH, la concentración de sal, la constante dieléctrica del solvente y la temperatura (Bora & Riveiro, 2004).

El aumento de la temperatura tiene dos efectos importantes: 1) el incremento de la solubilidad del soluto (Aguado & otros, 2002) y 2) el rompimiento de los enlaces de hidrogeno entre el agua y las moléculas (Horst-Dieter, 2001).

4.2.5.3 Influencia en la Pureza de la proteína

En la Figura 12 en los gráficos de superficies de respuesta para la pureza del punto isoelectrico 3, 4 y 5 se observa que el pH ejerció una influencia significativa sobre la pureza,

cuando la temperatura disminuye la pureza aumenta para el punto isoeléctrico 3 y 5, mientras que para el punto isoeléctrico 4 la temperatura no influyó significativamente sobre la pureza.

La máxima pureza encontrada corresponde al ensayo 9 del punto isoeléctrico 3, 4 y 5 a temperatura 30 °C y a pH 10 presentando una pureza de 55.56 %, siendo que el aumento de la temperatura y el pH influyen en el incremento de esta (Tabla 15).

Según Foste et al. (2015) mencionan que en la precipitación a pH 4 se obtuvo 41,2% de las proteínas de salvado extraídas lo cual se produjo después de esta etapa de purificación, mientras que las proteínas restantes se mantuvieron en solución y mencionan que el impacto de la purificación por precipitación isoeléctrica de proteínas y contenido va en función del valor de pH después de una extracción acuosa a un pH 10.

Bergesse et al. (2015) realizaron un extracto proteico en condiciones alcalinas y cada fracción y neutralizaron a distintos pH entre 2 y 7, el rango de pH de mayor precipitación fue entre 4 y 4,5; se tomó como punto isoeléctrico promedio 4,25. Con esos ensayos previos se realizaron aislados proteicos a partir de harina de quinua a pH 9, 10 y 11, los cuales tienen una pureza superior al 80 %.

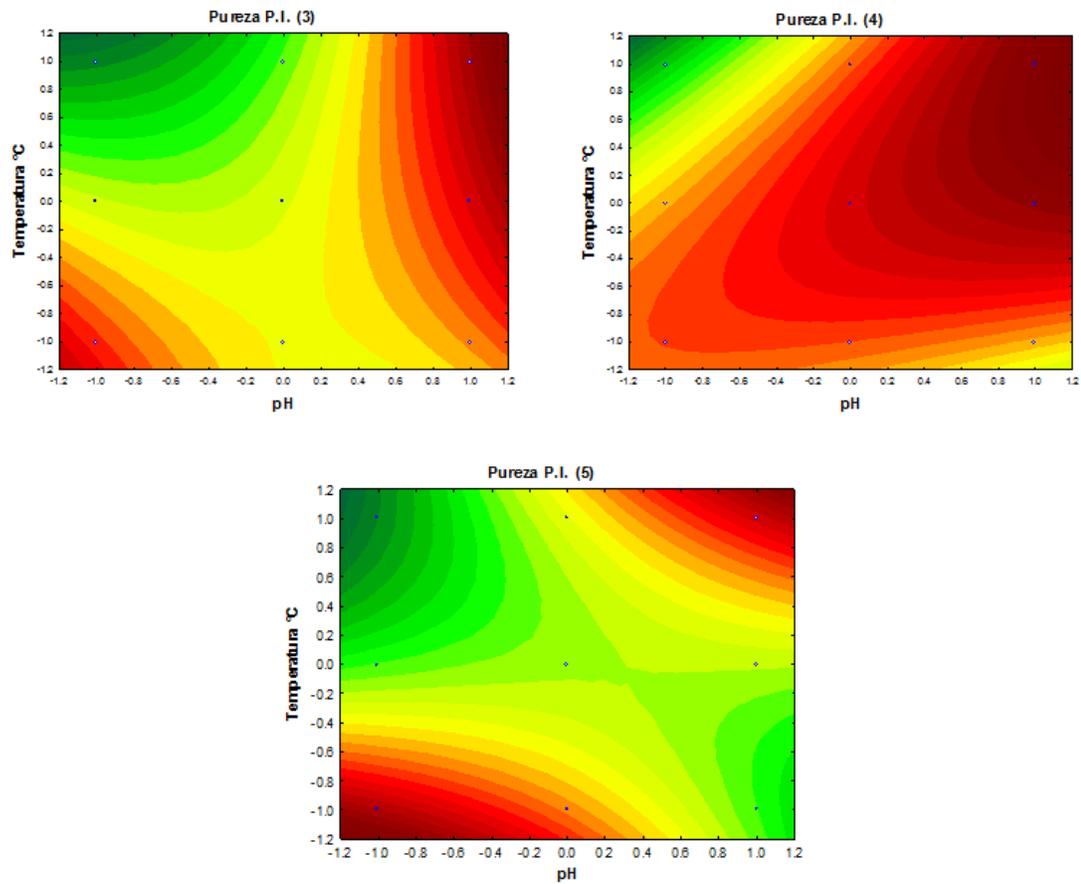


Figura 12. Superficies de respuesta de la pureza en función de la temperatura y el pH considerando los valores codificados

5 CONCLUSIONES

Las siguientes deducciones fueron hechas a partir de los resultados y discusiones seguidas en la presente investigación

1. Los granos de quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) variedad collana, no presentan diferencias ostensibles si se comparan los resultados de las características fisicoquímicas evaluadas (cenizas totales, grasa cruda, fibra cruda, carbohidratos) con los registros de otras variedades sin embargo el contenido de proteína cruda es inferior a todos los registros de otras variedades.
2. Las variables que ejercen efectos principales sobre el rendimiento de extracción de proteína fueron el pH y la temperatura (8 y a 20 °C). Las condiciones adecuadas de extracción de proteína recomendadas por el modelo correspondieron al punto isoeléctrico 3 obteniendo un 94.622 %.
3. Las variables que ejercen efectos sobre la solubilidad de la proteína fueron el pH y la temperatura de 8 y a 20 °C. Las condiciones adecuadas de extracción de proteína recomendadas correspondieron al punto isoeléctrico 5 obteniendo un 37.616 %.
4. Las condiciones adecuadas para la pureza se obtuvieron a un pH 10 y temperatura 30 °C obteniendo un 55.557 %, sin embargo, a un pH de 11, la proteína de la quinua puede ser expuesto a condiciones de desnaturalización,
5. Bajo los parámetros óptimos el aislado proteico de quinua negra presento un contenido máximo de pureza, solubilidad y rendimiento de 30.41 %, 12.99 % y 94.62 % siendo los parámetros más óptimos los que precipitaron a pI 3.

6 RECOMENDACIONES

Evaluar las propiedades funcionales del aislado proteico de quinua negra, así como en las propiedades nutritivas.

Estudiar las posibilidades de utilización de los subproductos resultantes del procesamiento de la quinua en la obtención del aislado proteico.

Estudiar el efecto más detallado de la solubilidad del aislado proteico mediante hidrólisis enzimática con enzimas proteolíticas ya que estas no se deteriora su valor nutritivo.

Realizar estudios de los posibles usos del aislado proteico en productos como: soufflés, merengues, galletas, bebidas rehidratantes.

Estudiar las posibilidades de utilización del aislado proteico mediante micro-encapsulación.

7 REFERENCIAS

- Aceituno-Medina, M., Lopez-Rubio, A., Mendoza, S. & Lagaron, J. 2013. Development of novel ultrathin structures based in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolate through electrospinning. Valencia-España. Food Hydrocolloids. 289-298p.
- Atwell, W., Patrick, B., Johnson L. & Glass R. (1982). Characterization of quinoa starch. Cereal Chem 60(1): 9-11
- Ayala, C. (1977). Efecto de localidades en el contenido de proteínas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis Ing. Agro. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Técnica del Altiplano. Puno, Perú. 97 p.
- Badui, S. (2006). Química de los Alimentos. México. Edición: 4ta. ISBN: 970-26-0670. 736p.
- Bourgeois, C. & Roux, P. (1982). Proteínas animales. Editorial: El manual moderno. México-México. 346p.
- Bruin, A. (1964). Investigation of the food value of quinua y cañihua seed. In: J. Food Sci. 29: 972-876p.
- Callisaya, J. & Alvarado, J. (2009). Aislados Proteínicos de granos Altoandinos Chenopodiaceas; Quinua “*Chenopodium Quinoa*” – Cañihua “*Chenopodium Pallidicaule*” por Precipitación Isoeléctrica. Bolivia. (26) (1). 20p. Recuperado de <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rbq/v26n1/v26n1a02.pdf>.
- Cheftel, J., Cuq, J. & Lorient, D. (1989). Proteínas Alimentarias. Editorial Acribia. España-Zaragoza. 346p.

- Código Alimentario. 2003. Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados. Argentina
101p.
- Codex Alimentarius. 2009. CODEX STAN 118- 1979, enmendado 1983, revisado 2008.
- Collazos, C. (1993). La composición de alimentos de mayor consumo en el Perú. (6ta ed.).
Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Nutrición
- Cordero de los Santos, J., Osuna Castro, A., Borodanenko, A. & Paredes Lopez, O. (2005).
Physicochemical and functional characterization of Amaranth (*Amaranthus
hypochondriacus*) protein isolates obtained by isoelectric precipitation and
micellisation. Food Sci. Technol. Int. 11, 269–280.
- Creighton, T. (1993). Proteins in solution and in membranes. In Proteins: Structures and
molecular properties. New York: W.H. Freeman and Company. Ed: 2nd. 261–325pp.
- Cronquist, A. (1981). An integrated system of the classification of flowering plants.
Columbia univ. Press. New York. 924p.
- Curare, (2006). Péptidos de Girasol: Antecedente a los Hidrolizados Proteicos. [En línea]
<<http://www.curare.com/Proteina%20Vegetal.htm>> [consulta: 27 de Noviembre del
2012].
- Diaz, V. & Rivera, B. (1980). Estudio de un método rápido para la determinación de
saponinas en el procesamiento de la quinua. Informe del Instituto de investigaciones
Agroindustriales. La Molina.
- FAO. (1970). Amino Acids content of food and biological data on Proteins. Part I, Sec. I.
Roma-Italia.

- FAO. (1989). *Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados Manual de Capacitación*. USA. 354p.
- Fennema, O. & Tannenbaum, S. (2000). *Introducción a la química de los alimentos*. Editorial: Acribia. 1258p.
- Ferreira, D., Pallone, J. & Poppi, R. (2014). Direct analysis of the main chemical constituents in *Chenopodium quinoa* grain using Fourier transform near-infrared spectroscopy. 91-95p.
- Föste, M., Elgeti, D., Brunner, A., Jekle, M. & Becker, T. 2015. Isolation of quinoa protein by milling fractionation and solvent extraction. *Food and Bioproducts processing*. Bavaria-Gernmany. 96. 20-26p. Recuperado de www.elsevier.com/locate/fbp
- Freitas, A., Wieser, D. & Apweiler, R. (2010). On the importance of comprehensible classification models for protein function prediction. 172-182p.
- Giese, J. (1994). *Proteins as Ingredients: Types, Functions, Applications*. *Food Tech* 50-60p.
- Gomez-Gutierrez, E. (1978). *Análisis bromatológico comparativo de semillas de quihuicha (*Amaranthus caudatus L.*) y quinua (*Chenopodium quinoa L.* variedad Sajama)*. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Cuzco-Perú.
- González, L., Téllez, A., Sampedro, J. & Nájera, H. (2007). Las proteínas en la nutrición. *Revista de salud pública y Nutrición*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México-México. Volumen (8) (2). 5-7p. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2007/spn072g.pdf>.
- Gonzales, M., Wells, M., Fischer, S. & Escuredo, O. (2013). Chemical characteristics and mineral composition of quinoa by near-infrared spectroscopy. 876-881p.

- Greenstein, J. & Winitz, M. (1961). Chemistry of the amino acids. New York. 760p.
- Guerreo-Ochoa, M., Pedreschi, R. & Chirinos, R. 2015. Optimized methodology for the extraction of protein from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.).
- Guerrero-Aquino, D. (1989). Obtención de un aislado proteico a partir de germen de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) desgrasado. Lima - Perú. UNALM. 90p. Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias.
- Horst-Dieter, T. (2001). Fundamentos de tecnología de los Alimentos. Zaragoza-España: Editorial Acribia. 746p.
- Iglesias, E., Monedero, V. & Haros, M. (2014). Bread with whole quinoa flour and bifidobacterial phytases increases dietary mineral intake and bioavailability. 71-77p.
Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364381400601X#>.
- Instituto de Innovación Agraria. (2013). Quinoa INIA 420 - Negra Collana. Perú.
- Jara-Navarro, M. (2008). Hambre desnutrición y anemia: una grave situación de salud publica. Pontificia Universidad Javeriana Colombia. (7). 7-10p.
- Jancurová, M., Minarovicová, L. & Dandar, A. (2009). Quinoa A review. Department of Food Science and Technology, Faculty of Chemical and Food Technology Slovak University of technology Bratislava, Slovak Republic. 71-79p. Recuperado de <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/06732.pdf>.
- Littlechild, J. (2013). Chapter 2-Structure and function of proteins. Elsevier. 57-79p.

- López de Romaña, G., Grabam, G., Rojas, M. & MacLean, W. (1981). Digestibilidad y calidad proteínica de la quinua: estudio comparativo en niños, entre semilla y harina de quinua. Universidad de Johns Hopkins, Baltimore Maryland, EUA. 487- 497p.
- Martin, C. & Smith, A. (1995). Starch biosynthesis. (7). 7. 971-985p. Recuperado de <http://www.plantcell.org/content/7/7/971>.
- Martinez, N. & Anon, M. (1996). Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. J. Agric. Food Chem. 44, 2523–2530p.
- Mataix-Verdú, J. & Sánchez de Medina, F. (2009). Bases Metabólicas de la Nutrición - Proteínas – Nutrientes. España. Editorial: Ergon. 111p. Recuperado de http://www.uco.es/master_nutricion/nb/Mataix/proteinas.pdf.
- Mazza, G. (2000). Alimentos Funcionales - Aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza-España. Editorial: Acribia. 291-307p.
- Miranda, M., Vega, A., López, J., Parada, G., Sanders, M., Aranda, M., Uribe, E. & Di Scala, K. (2010). Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). 258-263p.
- Ogungbenle, H. (2003). Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour. 153-158p.
- Oshodi, A., Ogungbenle H & Oladimeji M. (1999). Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed (*Sesamum radiatum*), pearl millet (*Pennisetum typhoides*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*) flours. 325p.

- Paredes-Lopez, O., Mendoza, V. & Mora, R. (1993). Isolation of amaranth flour proteins by fractionation procedures and sonication. *Plant Foods Hum. Nutr.* 43, 37–43.
- Paredes-Lopez, O., Mora-Escobedo, R. & Odorica-Falomir, C. (1988). Isolation of amaranth proteins. *LWTsFood Sci. Technol.* 21, 59–61.
- Prošková, J. (2014). Description of protein secondary structure using dual quaternions. Elsevier. 89-93p.
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C. & Jacobsen, S. (2003). Nutritional value and use of the andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). 179-189p.
- Rhee, K., Cater, C. & Mattil K. 1972. Simultaneous recovery of protein and oil from raw peanuts in an aqueous system. *J.Food Sci.* 37, 90-93p.
- Rivera-Figueroa, M. (2006). Obtención y caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de un aislado proteico de quinua orgánica (*Chenopodium quinoa*). Chile-Santiago. Tesis para optar el grado de ingeniero de Alimentos. Universidad de Chile. 69p.
- Romero, J. (1981). Evaluación de las características físico químicas y biológicas de 8 variedades de quinua. Tesis INCAP. Guatemala.
- Scarpati, Z. & Briceño, O. (1980). Evaluación de la composición química y nutricional de algunas entradas de quinua del banco de Germoplasma de la Universidad Técnica del Altiplano. En: *Anales científicos U.N.A.L.M.* Vol. XVIII (1-4).

- Schoenlechner, R., Drausinger, J., Ottenschlaeger, V., Jurackova, K. & Berghofer, E. (2010). Functional Properties of Gluten-Free Pasta Produced from Amaranth, Quinoa and Buckwheat. 339-349p.
- Schultz, H. & Anglemier, A. (1964). Proteins and their reactions. Editorial: Avi Publishing Co Inc. ISBN-10: 0870550357. 472p.
- Simopoulos, A. (2008). The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. 122p. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614017695>.
- Sin, H., Yosof, S., SHEikh, N. & Rahman, R. (2006). Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology. J. Food Eng. 74 (2006):352-358p.
- Soriano-Santos, J. & Cordoba-Salgado, M. (1995). Evaluation of different methods of solubilization of nitrogen for preparation of protein concentrates from amaranth seed. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment. 35, 161–177.
- Söding, L. & Lupas, A. (2003). More than the sum of their parts: On the evolution of proteins from peptides. Germany. (25) 9. 837-846p.
- Sumar-Kalinowski, L. (1981). Evaluación del contenido de proteínas y fibra en semillas de sesenta y cuatro muestras de la colección de kiwicha cusco (*Amaranthus caudatus* L). Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. 58p.
- Taboada-Seminario, M. (1990). Evaluación de las propiedades funcionales de un aislado proteico de germen de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) Desgrasado. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima-Perú. 86p.

- Tang, Y., Li, X., Zhang, B., Chen, P., Liu, R. & Tsao, R. (2014). Characterization of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa Willd.* Genotypes. Editorial: Elsevier. 380-388p. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614009042#>.
- Tang, C., Ten Z., Wang, X. & Yang, X. (2006). Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa L.*) protein isolate. J. Agric. Food Chem. 54, 8945–8950.
- Tapia, M., Gandarillas, H., Alandia, S. Cardozo, A. Salas, B. & Sanabria, E. (1979). Quinoa y Cañihua. Cultivos Andinos. CIID-IIA. Bogotá.
- Vietmeyer, N. (1989). Lost crops of the Incas - Little known plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation. Washington D.C. National Academy Press. 149-161p. Recuperado de http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=1398&page=159.
- Zanabria, S. (2003). Obtención de una bebida a partir de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) hidrolizada. Tesis para optar el grado de magister Scientiae. Lima-Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina. 9-11p.

ANEXOS

Anexo 1. Determinación de Humedad (AOAC 2000 - Método 44.19)

Equipos

Platos de humedad de aluminio, diámetro de aproximadamente 55 mm, no más de 40 mm de profundidad, y provistos de tapa deslizable.

Horno con secador de aire.

Procedimiento

Llevar la muestra y pasar por el tamiz con aberturas circulares de 1 mm (1/25 pulg.) de diámetro y mezclar bien. Si la muestra no se puede moler, reducir a la condición tan bien como sea posible.

Pesar la muestra ($2 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$) en cada plato, con tapas removidas, colocar los platos con tapas en el horno y secar las muestras por 2 horas a 135°C . (Secado periodo comienza cuando la temperatura del horno es en realidad 135°C) trasladar la muestra con el plato al desecador, enfriar. Pesar y calcular la pérdida de peso como la humedad según la Ecuación 2.

Ecuación 2. Determinación de Humedad

$$\% \text{ Humedad de la muestra} = \frac{\text{Peso de agua evaporada}}{\text{Peso de la muestra húmeda}} \times 100$$

$$\% \text{ Materia seca} = 100 - \% \text{ de humedad}$$

$$100 \times \frac{P_i - P_f}{P_i} = \% \text{ de humedad}$$

Donde:

Pi = Peso inicial; Pf = Peso final

Anexo 2. Determinación de cenizas (AOAC 2000 - Método 08 - 01)

Equipos

- Horno de mufla eléctrico proporcionado con pirómetro y control automático para mantener la temperatura.
- Los platos de incineración, preferentemente de platino o de sílice.

Procedimiento

- Pesar 3 - 5 ± 0,0001 g de muestra bien mezclada en un crisol de porcelana o plato de incineración.
- Coloque en el horno de mufla a 550°C para las harinas de trigo blando o 575 - 590°C de harinas de trigo duro. Incinerar hasta que se obtenga la ceniza de color gris claro o hasta peso constante.
- La ceniza no se debe fusionar.
- Enfriar en el desecador y pesar después de que alcanza la temperatura ambiente y calcular según la Ecuación 3.

Ecuación 3. Determinación de cenizas

$$\% \text{ de Cenizas en base seca} = \frac{\text{Peso de cenizas}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ de Cenizas en base húmeda} = \frac{\% \text{ de cenizas base seca} \times \% \text{ materia seca}}{100}$$

$$\% \text{ de materia orgánica} = 100 - \% \text{ Cenizas base seca}$$

Anexo 3. Determinación de extracto etéreo o grasa cruda (AOAC 1980)

Fundamento

La extracción Soxhlet consiste básicamente en el lavado sucesivo de una mezcla sólida con un determinado solvente, que va lavando o extrayendo de la mezcla los componentes más solubles. Existen muchos solventes con los que se pueden trabajar como el hexano, éter, cloroformo, metanol, acetato de etilo, etc.

Equipos

- Extractor.
- El papel de filtro.
- Cartuchos de extracción 22 × 80 mm.
- Algodón, libre de extracto etéreo, o lana de vidrio Pyrex.
- Horno o desecador para el secado no oxidativo de la muestra.

Reactivo

- Éter de petróleo, punto de ebullición 30-60°C.

Procedimiento

- Pesar 2 - 5 g (dependiendo del contenido de grasa) de la muestra que ha sido previamente secado en horno de vacío a 95-100°C, bajo la presión que no exceda de 100 mm Hg (aproximadamente 5 h). llevar al desecador sobre H₂SO₄ concentrado durante aproximadamente 24 horas, bajo presión no superior a 10 mm Hg, también puede ser utilizado para secar la muestra.

- Llevar muestra de transferencia cuantitativamente al extractor y extraer con éter de petróleo durante 4 horas a una velocidad de condensación de 5-6 gotas / seg a 16 horas a 2 - 3 gotas / tasa seg.
- Retire el éter del frasco de recogida o vaso de precipitados a baja temperatura evitando su volatilización, sacar la muestra y llevar al horno.
- La grasa que queda seca, se almacena vaso de grasa o frasco del equipo a 100°C durante 30 minutos antes. Desecar.
- Pesar, y repita el paso por 4 horas hasta peso constante y finalmente calcular mediante la Ecuación 4.

Ecuación 4. Determinación de extracto etéreo o grasa cruda

$$\text{Grasa bruta o extracto etéreo \%} = \frac{(\text{Peso de extracto} - \text{blanco})}{(\text{Peso de la muestra})} \times 100$$

Anexo 4. Equipo de extracción de grasa (Soxhlet)

El equipo de extracción utilizado para realizar el desgrasado se muestra en la Figura 13 estuvo compuesto por una cocina con control de temperatura, soporte universal y el equipo Soxhlet.

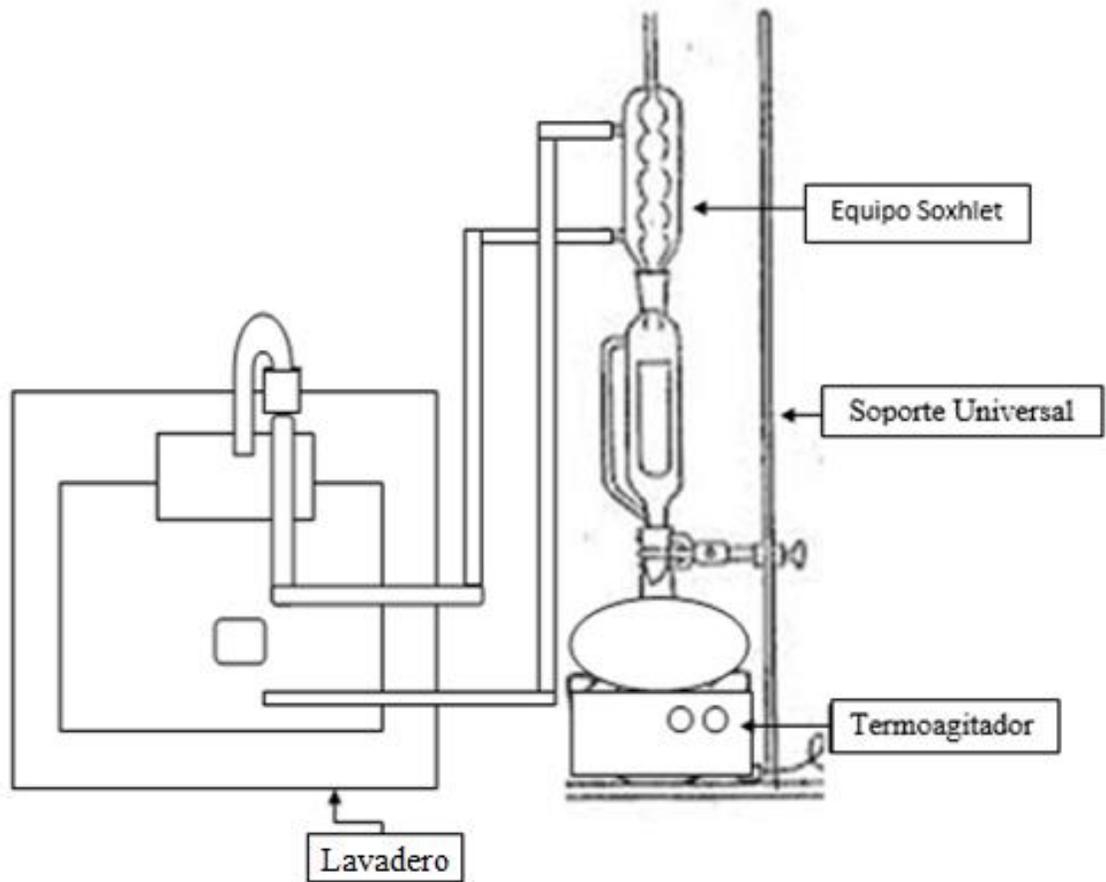


Figura 13. Esquema del equipo de extracción de grasa (Soxhlet)

Anexo 5. Determinación de proteína por el método de Kjendahl

(AACC 46-13)

Equipos

- Estante de la digestión.
- Aparato de destilación.
- Matraces de digestión, de 30 ml.

Procedimiento

- Pesar la muestra de 10 a 30 mg en una balanza micro o semi-micro equilibrio y trasladarlo al matraz de digestión. Pesar la muestra, ya sea en el tubo de ensayo o en el trozo de papel cigarrillo.
- En la muestra añadir el catalizador (Sulfato de potasio (K_2SO_4) $1,30 \pm 0,05$ g, 40 ± 5 mg HgO), y 2,0 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Llevar al digestor por 4 hr (1 hora si se conoce que la muestra contiene sólo aminas, amidas, u otros materiales fácilmente digeribles) en ebullición vigorosa ebullición, con ácido de condensación bien arriba en el cuello de frasco. Enfriar, agregar la cantidad mínima de agua necesaria para disolver los sólidos (aproximadamente 5 ml), y coloque la película delgada de vaselina en los labios del matraz.
- Transferir al digestor.
- Colocar 125 ml en matraz Erlenmeyer, que contiene 5 ml solución de Ácido Bórico (H_3BO_3) al 4 % y 4 gotas de indicador (reactivo 1 o 2). Añadir 8 ml de NaOH, hasta destilar y por alrededor de 15 ml de destilado recoger.

- Diluir el contenido de receptor a 50 ml con agua y titular amoníaco con 0,02 N HCl.
Elegir como punto final de color gris o primera aparición de rojo.
- Hacer determinación del blanco, utilizando la misma cantidad de reactivos y el mismo período de digestión como para la determinación, y enjuagar matraz de digestión de la misma manera, determinar mediante la Ecuación 5.

Ecuación 5. Determinación de proteína por el método de Kjendahl

% Nitrógeno =

$$\frac{(\text{ml HCl en la determinación} - \text{ml en blanco}) \times \text{normalidad} \times \text{peso equivalente de N} \times 100}{(\text{peso de la muestra (mg)})}$$

/

Anexo 6. Determinación de fibra cruda (AOAC 2005)

- 1 g de la muestra se digesta con 100 ml de ácido sulfúrico 1,25% en un vaso precipitado durante 30 minutos.
- Filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado al vacío.
- Lavar el residuo con agua destilada caliente hasta neutralizar.
- El material lavado transferir de nuevo al vaso precipitado y mantener a reflujo durante 30 minutos con 100 ml de 1,25 % de hidróxido de sodio.
- El material digestado se filtra de nuevo y se lava con agua caliente hasta que se neutralice.
- El material lavado se seca a 130 ° C durante 1 hora, se enfría en un desecador y se pesa.
- El residuo seco fue encendido durante 6 horas y se vuelve a pesar el crisol con el material quemado (ceniza).

La fibra cruda se calcula mediante la Ecuación 6:

Ecuación 6. Determinación de fibra cruda

$$\text{Porcentaje de Fibra cruda} = \frac{A - B \times 100}{\text{Peso de la Muestra}}$$

Donde:

A = peso de la placa y el residuo

B = peso del crisol y cenizas

Anexo 7. Determinación de Carbohidratos (MS-INN – Collazos 1993)

La determinación de hidratos de carbono se realiza por diferencia, a partir de los resultados obtenidos en las determinaciones de grasa (G), cenizas (C), proteína (P), humedad (H) y fibra dietética (FD) mediante la Ecuación 7:

Ecuación 7. Determinación de Carbohidratos

$$\text{Hidratos de carbono (\%)} = 100 - (G + C + PB + H + FD)$$

Anexo 8. Obtención del Aislado proteico (AOAC 1980)

Desgrasado de la harina

- La harina de quinua se desgrasa por el método de Soxhlet.
- Pesar 30 g de harina y 120 ml de éter de petróleo.
- Dejar extraer por 6-8 horas hasta que quede un líquido traslucido.
- Dejar en la campana extractora para volatilizar el éter.
- Secar el solvente a 40°C por 1 hora en el secador de bandejas.
- Pesar para determinar el rendimiento.

Obtención del Aislado proteico.

- Pesar 5 g de harina de quinua desgrasada.
- Añadir 100 ml de agua destilada, y proceder a diluir.
- La muestra se ajusta a pH 9 con solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) a 4 N.
- Añadir gota a gota de esta solución y con ayuda del pH-Metro controlamos hasta llegar al pH alcalino.
- Finalmente utilizar 8 gotas de esta solución.
- Una vez ajustado el pH, llevar a agitación la muestra por 45 min a 55°C.
- Dejar enfriar a Baño María con hielo a temperatura ambiente.

Primera Etapa

- Proceder a la primera agitación, colocando la misma cantidad en ocho tubos de la centrifuga, por 20 min.
- Separar el sobrenadante (líquido) del precipitado (sólido) quedando con el líquido.
- Nuevamente ajustar el pH a 4.5 con ácido clorhídrico (HCl) a 2 N.

- Añadir gota a gota de esta solución a la muestra y con ayuda del pH-metro contralar hasta llegar el pH ácido.
- Utilizar 12 gotas.

Segunda Etapa

- Realizar la agitación por una hora a temperatura ambiente, y después el centrifugado por 20 min a 5000 rpm quedando con el precipitado (sólido). Este sólido obtenido es el aislado proteico.
- Sacar de los tubos y colocar en placas petri para llevarlo a secar por 12 horas a 450°C.

Anexo 9. Obtención del Aislado proteico (AOAC 1980)

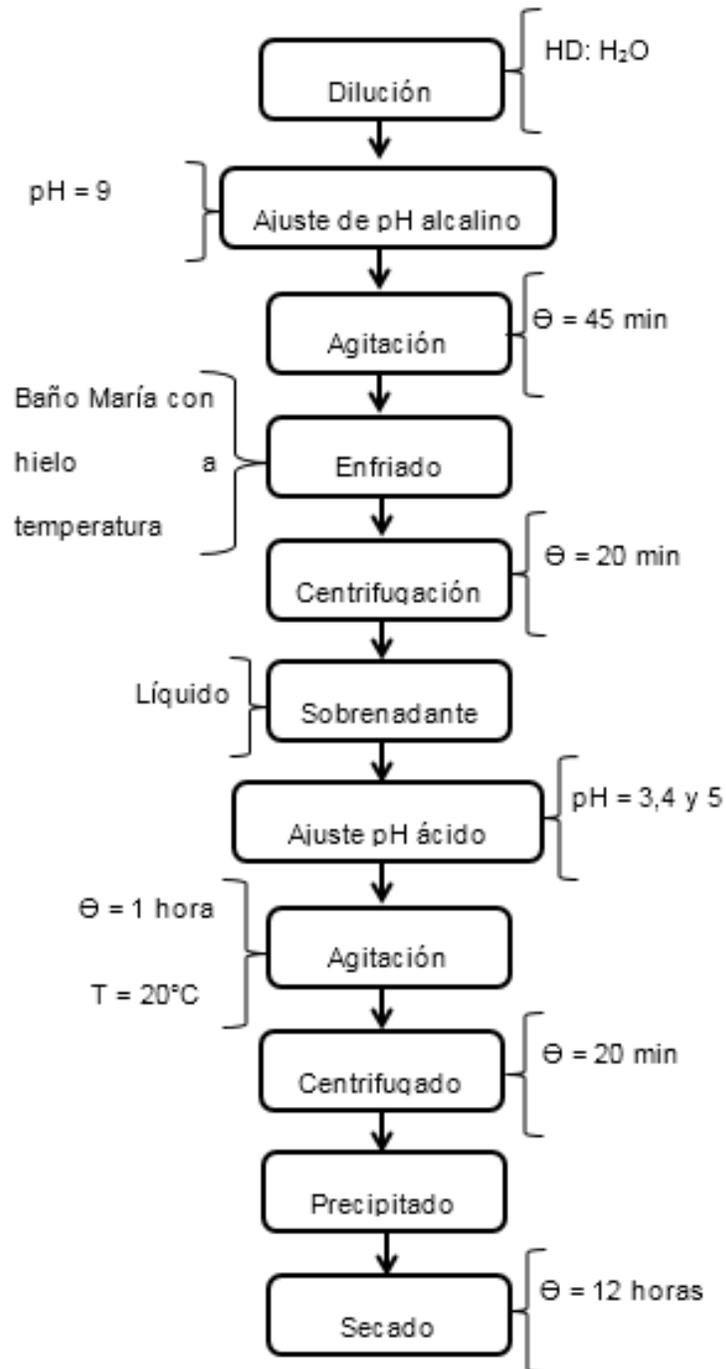


Figura 14. Flujo de operaciones para la obtención de aislado proteico proveniente de granos de quinua variedad negra collana (*Chenopodium quinoa Willdenow*)

Anexo 10. Determinación de la Solubilidad de la proteína

- Preparar las muestras de harina en medio acuoso (0,96 g proteína / 40 ml)
- Homogenizar las muestras
- Centrifugar durante 15 min a 10000 rpm.
- Determinar el contenido de proteína utilizando como factor de conversión % N 6,25
- Los porcentajes de proteína soluble (calculadas como contenido de proteína de sobrenadante 100/peso de polvo de CFPI) se representaron vs el pH para determinar el pH mínimo de solubilidad (Tan, Koopal, Weng, van Riemsdijk, y Norde, 2008).

La determinación de solubilidad del aislado proteico se determinó por el método de la AACC 46-10 (Ecuación 8).

Ecuación 8 - Determinación de solubilidad

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{0.5 - Pr}{0.5} \times 100$$

Donde:

Pr = Precipitación de la muestra (g)

0.5 = Peso del aislado seco (g)

Anexo 11. Aislado proteico con punto isoeléctrico a diferentes pH y temperaturas

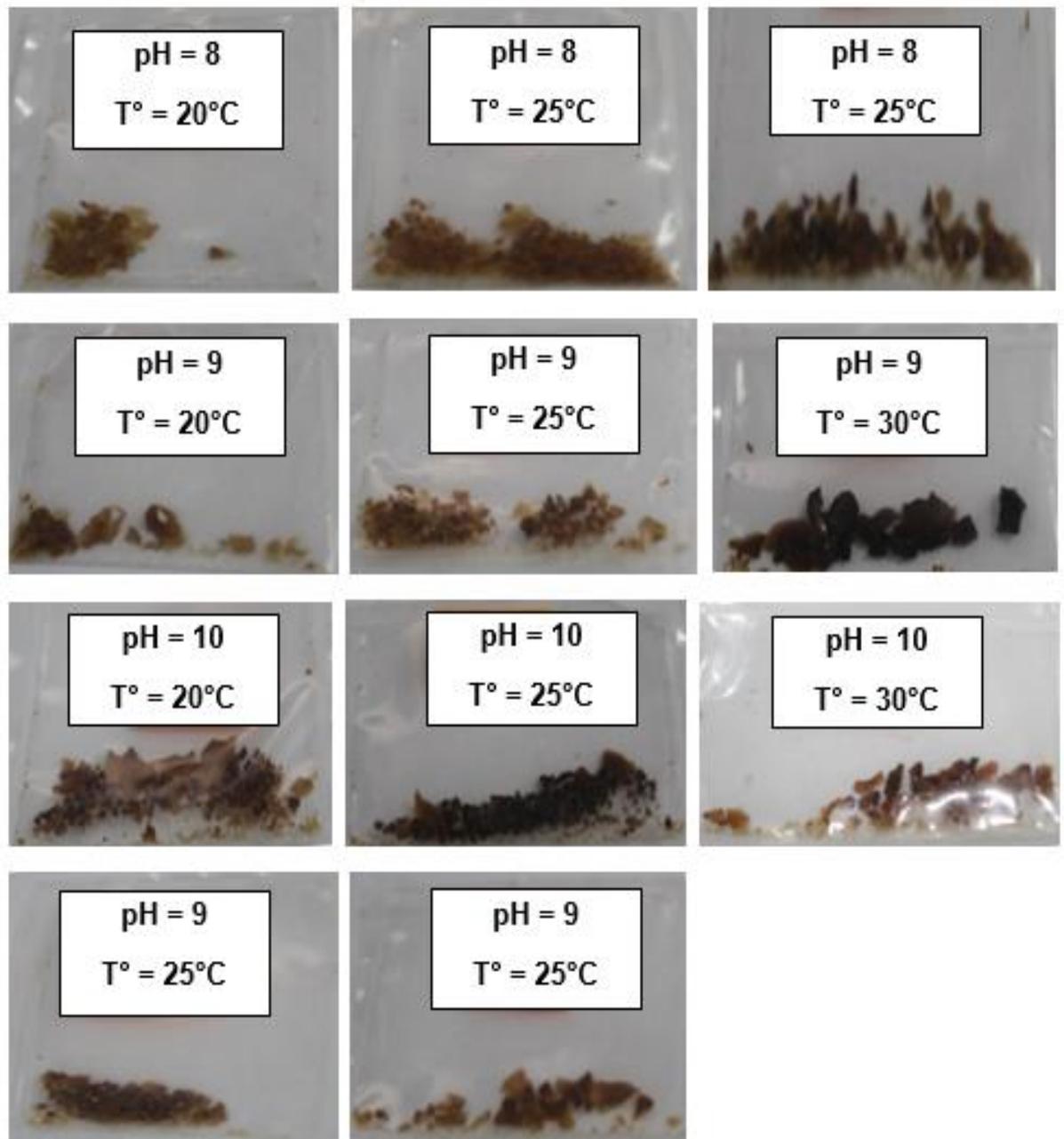


Figura 15. Punto isoeléctrico (3)

Anexo 12. Aislado proteico con punto isoelectrico a diferentes pH y temperaturas

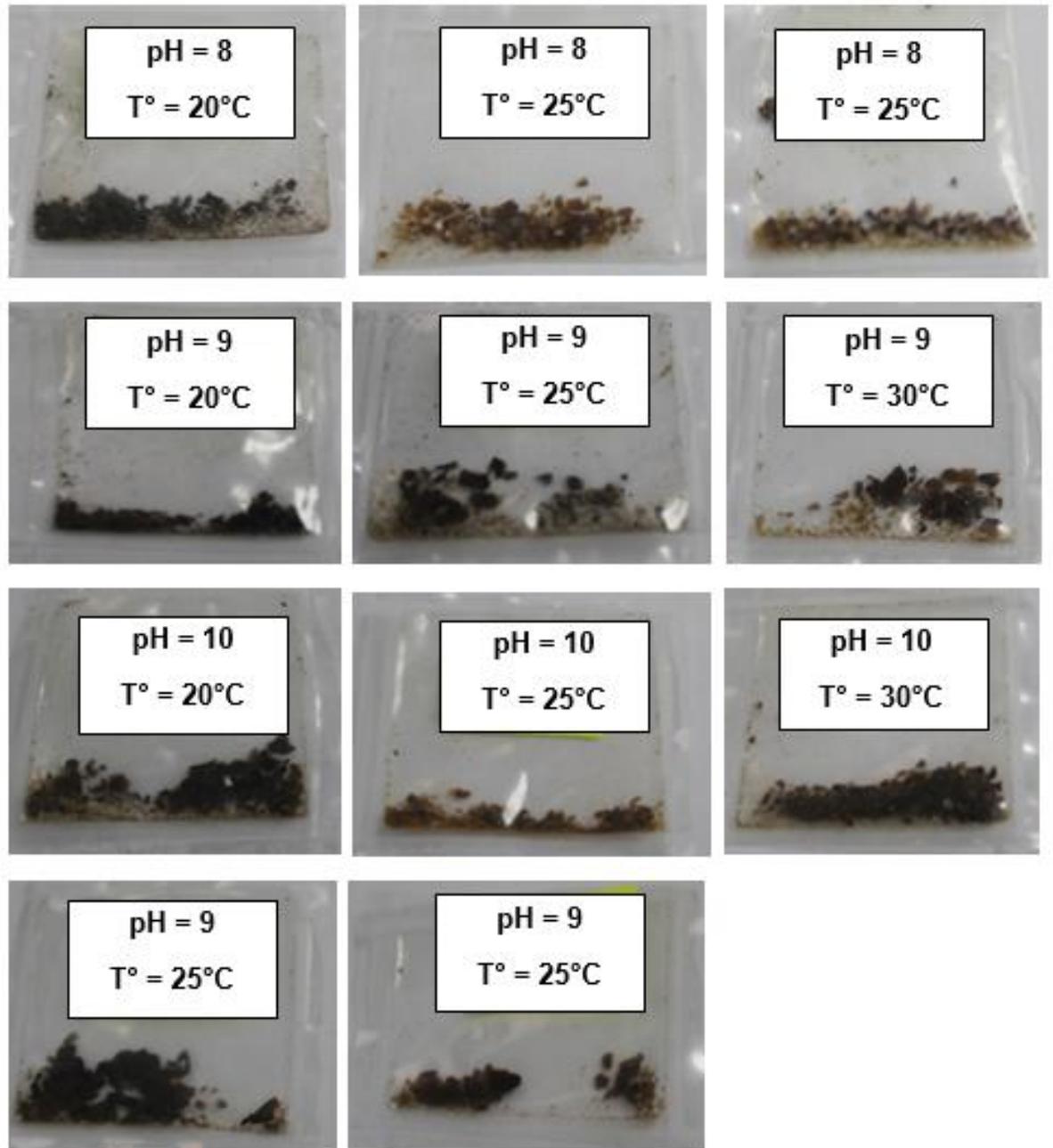


Figura 16. Punto isoelectrico (4)

Anexo 13. Aislado proteico con punto isoeléctrico a diferentes pH y temperaturas

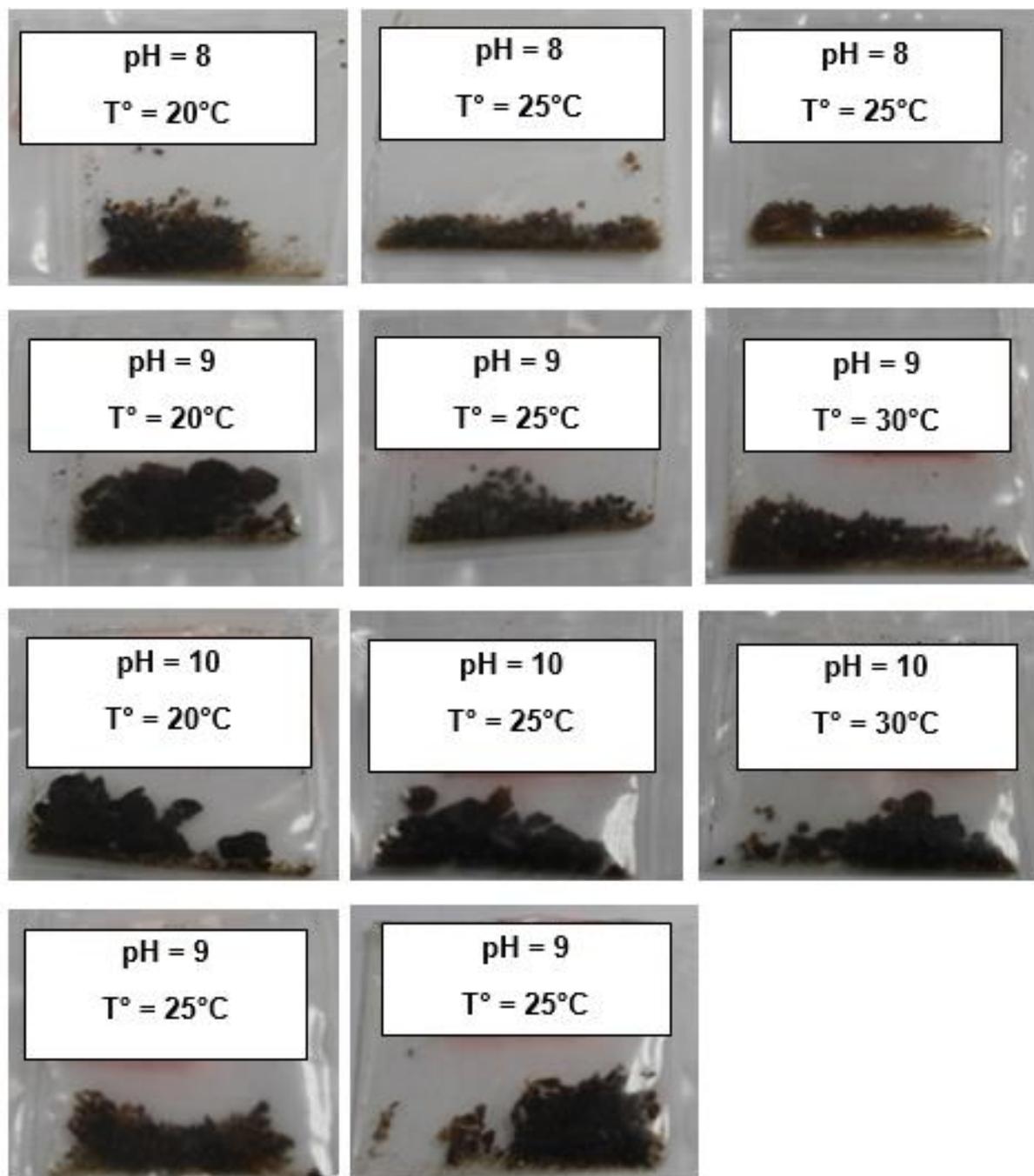


Figura 17. Punto isoeléctrico (5)

**Anexo 14. Determinación de los análisis proximales de la harina de
quinua negra (*Chenopodium quinoa willdenow*)**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA
LABORATORIO DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO (LASAQ)



INFORME DE ENSAYOS
LASAQ N° 048-2014-DQ

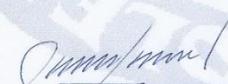
SOLICITANTE : MARITA ADA SHIRLEY DIAZ DE LA VEGA HUANCA
 PRODUCTO DECLARADO : Quinua negra
 NÚMERO DE MUESTRAS : Uno
 CANTIDAD RECIBIDA : 100 g
 MARCA : S/M
 FORMA DE PRESENTACIÓN : En bolsa de plástico
 MUESTREADO POR : Muestra proporcionada por el solicitante.
 FECHA DE RECEPCIÓN : 08 de Julio del 2014
 FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO: 18 de Julio del 2014
 ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO/QUÍMICO

ENSAYOS FÍSICO/QUÍMICOS:

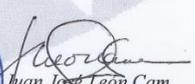
ENSAYO	RESULTADOS
1.- Humedad (g/100 g de muestra original)	12,61
2.- Cenizas Totales (g/100 g de muestra original)	2,61
3.- Grasa Cruda (g/100 g de muestra original)	3,43
4.- Proteína Cruda(g/100 g de muestra original)	8,34
5.- Fibra Cruda (g/100 g de muestra original)	2,21
6.- Carbohidratos (g/100 g de muestra original)	73,01
7.- Energía Total (kcal/100g de muestra original)	356,27

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:
 1.- AACC American Association Of Cereal Chemists 10th Edition, 2000. 44-19
 2.- AACC American Association Of Cereal Chemists 10th Edition, 2000. 08-01
 3.- AACC American Association Of Cereal Chemists 10th Edition, 2000. 30-25
 4.- AACC American Association Of Cereal Chemists 10th Edition, 2000. 46-13
 5.- AACC American Association Of Cereal Chemists 10th Edition, 2000. 32-10
 6.- Por Dif. MS-INN Collazos 1993.
 7.- Por Calc. MS-INN Collazos 1993.

Atentamente:


 Mg. Sc. Juan Carlos Palma
**JEFE DEL LABORATORIO DE
ANÁLISIS QUÍMICO**


 JEFATURA DE
**JEFE DEL DEPARTAMENTO
ACADÉMICO DE QUÍMICA**


 Juan José León Cam
**JEFE DEL DEPARTAMENTO
ACADÉMICO DE QUÍMICA**

Departamento Académico de Química : Tlf. 6147800 Anexos (305-307)
 Av. La Molina s/n La Molina Facultad de Ciencias (1er. Piso)
 Email : dqumica@lamolina.edu.pe

Figura 18. Análisis proximales de la harina de quinua negra

Anexo 15. Procedencia de la materia prima quinua negra variedad Collana (Chenopodium quinoa willdenow)

MINISTERIO DE AGRICULTURA
inia
Instituto Nacional de Innovación Agraria

E. E. ILLPA
PUNO - PERÚ

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS PLANTONES Y REPRODUCTORES
Nombre o Razón Social del productor: INIA
Registro Productor de Semilla N° 672 - 2001 - AG - SENASA

Especie: Quinoa Fecha de Análisis de calidad: 14-10-2013

Cultivar: INIA 420 Negra Collana Pureza Varietal: 98 %

Categoría: Autorizada % Germinación: 99

Código de lote: 06-12-01 Peso neto: 0.5 kg.

Condiciones de almacenamiento: Tratamiento:

Campaña Agrícola: 2011-2012

Dirección: Rinconada de Salcedo s/n, Telf.: (051) 365591 - Fax: (051) 363812
E-mail: illpa@inia.gob.pe

Figura 19. Procedencia de la materia prima

Anexo 16. Equipo de extracción de proteínas

El equipo de extracción utilizado fue descrito por Sosa (2000), estuvo compuesto por una cocina con control de temperatura, recipiente de vidrio (beaker) motor de agitación, termómetro de mercurio, beaker y pH-metro, el equipo se muestra en la Figura 20.

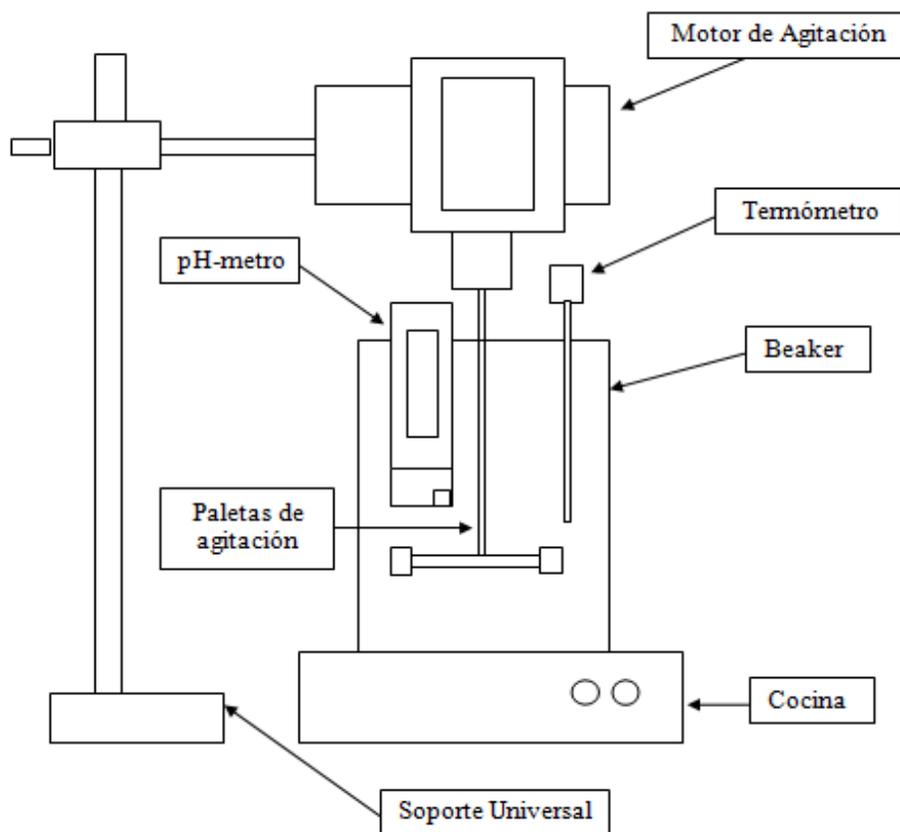


Figura 20. Esquema del equipo de extracción de proteínas

Anexo 17. Rendimiento de extracción del aislado proteico

El rendimiento de extracción del aislado proteico se determinó por el peso del aislado seco en relación al peso de la muestra (Ecuación 9).

Ecuación 9. Rendimiento del aislado proteico

$$\%RQ = \frac{PRQ}{PS_A} \times 100$$

Donde:

$\%RQ$ = Porcentaje de Quinoa extraída o rendimiento de extracción (%).

PRQ = Peso del aislado seco obtenido (g).

PS_A = Peso de la muestra de la harina seca antes de la extracción (g).

Anexo 18. Contenido de proteína

Se determinó el contenido de proteína del aislado proteico extraído mediante análisis de micro-kjeldahl utilizando para la digestión 0.03 gr de muestra, 1 gr de catalizador (compuesto de 100 gr de sulfato de potasio (K_2SO_4) y 0.25 gr de sulfato de cobre pentahidratado), y 3 ml de ácido sulfúrico 98 %, se digesto por 3 h. El amoniaco desprendido durante la destilación fue recogido en solución de ácido bórico 4 % y titulado con HCl 0.05 N en presencia de indicador verde de bromocresol. El contenido de proteína se calculó según la Ecuación 10.

Ecuación 10. Determinación del contenido de proteína

$$Pr = \frac{(G - B) \times N \times (P_{eq}) \times 100}{PM} f$$

Donde:

Pr = Contenido de proteína (g de proteína/ 10 g de muestra).

G = Gasto de HCl utilizado en la titulación de la solución de ácido bórico posterior de la destilación (ml)

B = Blanco (ml)

N = Normalidad de HCl utilizado en la titulación (Eq/L).

P_{eq} = Peso equivalente (1.4007)

PM = Peso de la muestra (g).

f = Factor de transformación de porcentaje de nitrógeno a proteína igualado a 6.25 al no existir un factor conocido previamente para la quinua negra.

Anexo 19. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 5

Tabla 19

Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 5

Fuente de variación	gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		SS	p	SS	p	SS	p
Ph	1	255.388	0.257811	236.226	0.061893	6.9883	0.665581
Temperatura °C	1	1830.832	0.011493	466.611	0.015852	70.6226	0.191625
Error	8	1376.481		401.613		277.7334	
Total SS	10	3462.701		1104.450		355.3442	

^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

Anexo 20. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 4

Tabla 20

Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 4

Fuente de variación	gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		SS	p	SS	p	SS	p
pH	1	0.490	0.954376	40.7761	0.033297	137.2948	0.099888
Temperatura °C	1	1365.470	0.014283	104.8393	0.003364	19.9613	0.498272
Error	8	1123.989		49.5151		317.3875	
Total SS	10	2489.949		195.1304		474.6437	

^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

Anexo 21. Anova de las variables independientes del punto isoeléctrico 3

Tabla 21

Análisis de varianza de las variables independientes sobre las variables respuestas para el punto isoeléctrico 3

Fuente de variación	gl	Rendimiento		Solubilidad		Pureza	
		SS	P	SS	p	SS	p
pH	1	3400.054	0.000253	49.3131	0.007833	391.933	0.082902
Temperatura °C	1	207.757	0.162534	72.1220	0.002768	611.790	0.038398
Error	8	702.364		31.8185		798.858	
Total SS	10	4310.175		153.2536		1802.581	

^agl: Grados de libertad, ^bSS: Suma de cuadrados, En rojo los términos significativos bajo un $\alpha = 0.05$.

Anexo 22. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 3

En la Figura 21 se muestran los valores observados vs los valores predichos para las cuatro variables con mejor ajuste (rendimiento, solubilidad, pureza). Se observa que los puntos están cercanos a la línea de referencia indicando que los datos experimentales son similares a los datos obtenidos por los modelos de regresión y por tanto los modelos de regresión son adecuados.

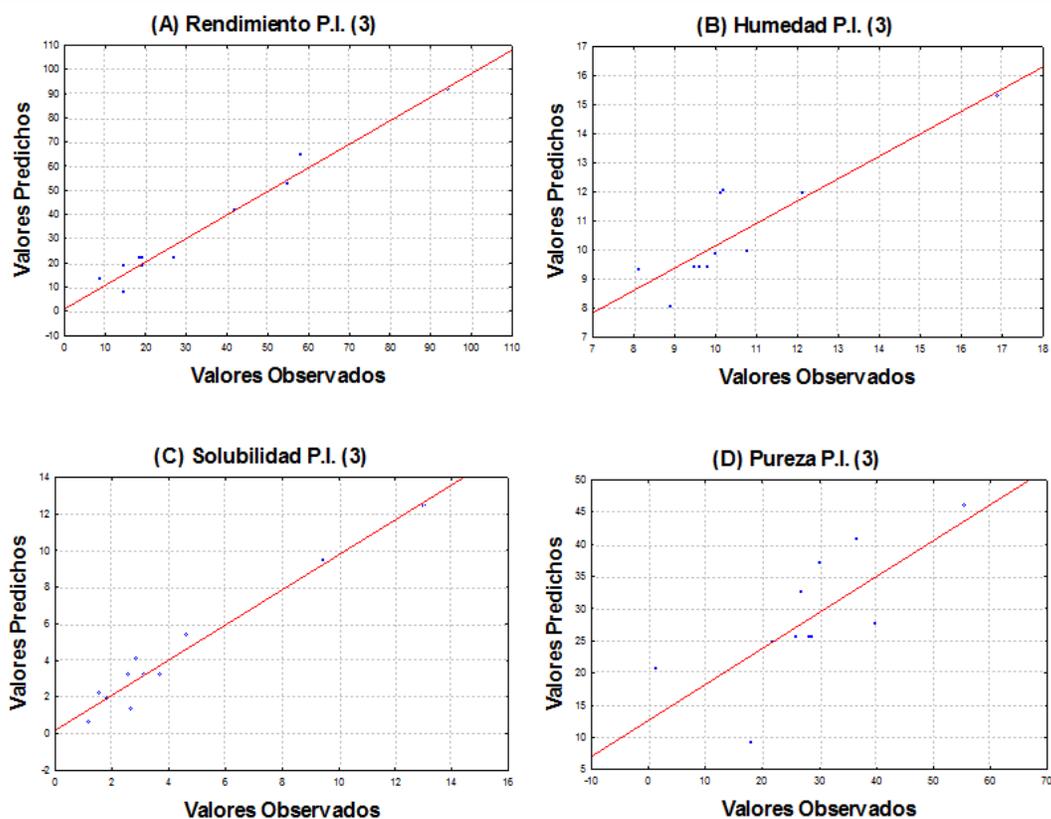


Figura 21. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 3 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza

Anexo 23. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 4

En la Figura 22 se muestran los valores observados vs los valores predichos para las cuatro variables con mejor ajuste (rendimiento, solubilidad, pureza y humedad). Se observa que los puntos están cercanos a la línea de referencia indicando que los datos experimentales son similares a los datos obtenidos por los modelos de regresión y por tanto los modelos de regresión son adecuados.

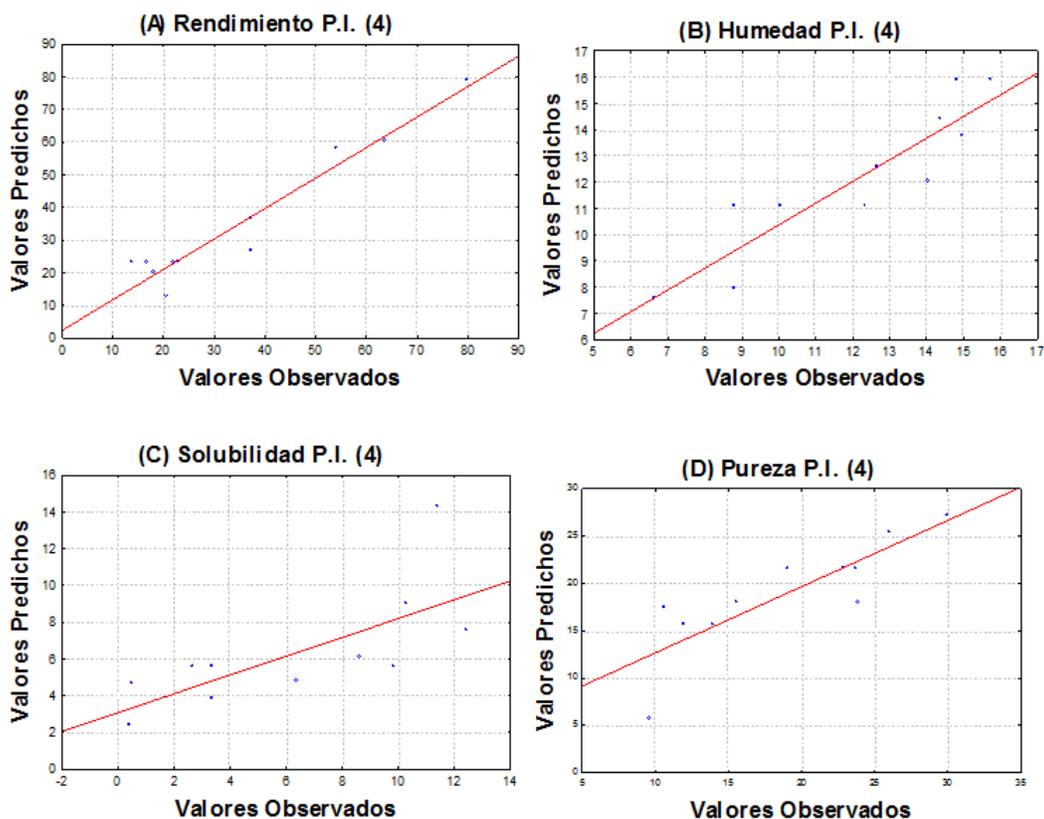


Figura 22. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 4 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza

Anexo 24. Validez del modelo para el Punto Isoeléctrico 5

En la Figura 23 se muestran los valores observados vs los valores predichos para las cuatro variables con mejor ajuste (rendimiento, solubilidad, pureza y humedad). Se observa que los puntos están cercanos a la línea de referencia indicando que los datos experimentales son similares a los datos obtenidos por los modelos de regresión y por tanto los modelos de regresión son adecuados.

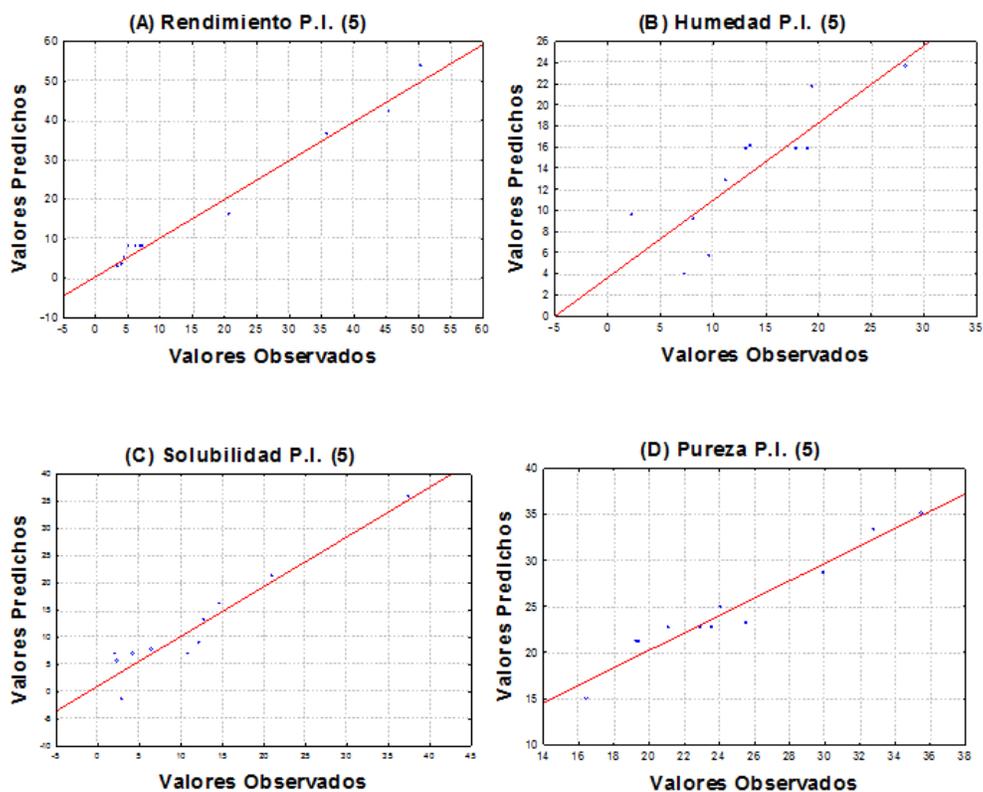


Figura 23. Valores observados vs los valores predichos del punto isoelectrico 5 para las variables (A) rendimiento, (B) humedad, (C) solubilidad y (D) pureza

Anexo 25. Análisis de significancia de las variables independientes

Se realizó el análisis a un nivel de significancia (p) de 0.05 según el diagrama Pareto para el rendimiento del punto isoeléctrico 3, 4 y 5, la variables independientes del punto isoeléctrico 3 propuesta fue significativa ($p < 0.05$) en el rendimiento del aislado proteico de la quinua negra (*Chenopodium quinoa Willdenow*) influyendo negativamente en la forma lineal y en la forma cuadrática presenta influencia positiva, mientras que la temperatura también obtuvo influencia significativa en la forma cuadrática y en la forma lineal influencia negativamente; para el punto isoeléctrico 4 la temperatura en forma lineal presento influencia negativa, mientras que en forma cuadrática la influencia fue menos y positiva ,así mismo el pH no presentó ninguna influencia ni en forma lineal ni cuadrática; y para el punto isoeléctrico 5 la influencia tanto para el pH y temperatura en forma lineal fue negativa mientras que en forma cuadrática la temperatura y el pH fueron positivos.

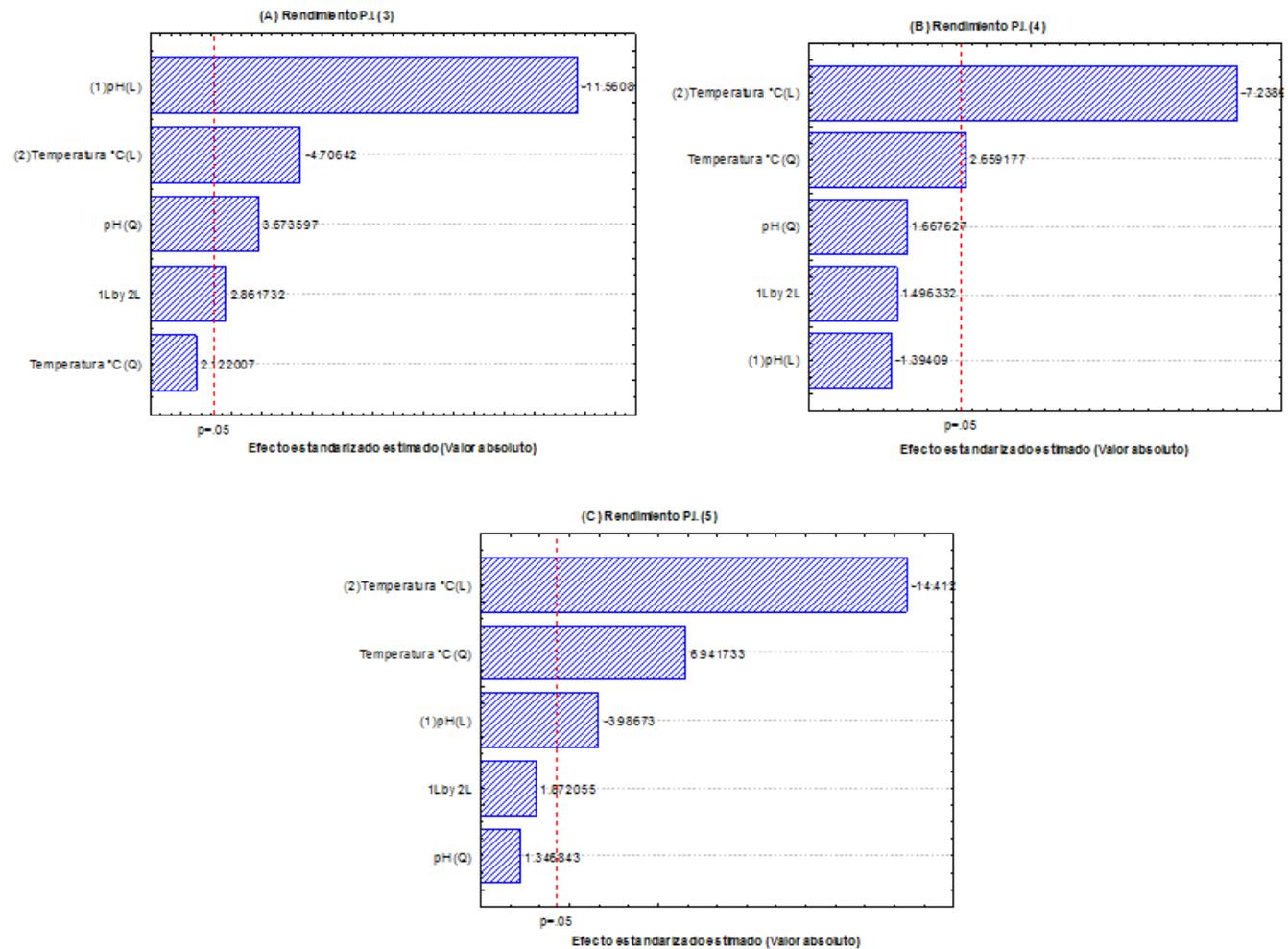


Figura 24. Variables significativas en el diseño según diagrama de pareto, (A) punto isoelectrico 3, (B) punto isoelectrico 4 (C) punto isoelectrico 5 del rendimiento

En la Figura 24 se observa que la interacción de las variables significativas, es decir, la temperatura y el pH favorece al rendimiento de las proteínas para el punto isoelectrico 3 mientras que para el rendimiento del punto isoelectrico 4 la temperatura y el pH no presentan ninguna influencia significativa de la misma forma el rendimiento del punto isoelectrico 5 no presenta influencia significativa.