

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO DE TORTA DE  
TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet) Y EVALUACIÓN DE SUS  
PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES”**

Presentado por:

**DANIEL ANGEL BREÑA DIAZ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Lima – Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO DE TORTA DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet) Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES TECNOLÓGICAS”**

Presentado por:

**DANIEL ANGEL BREÑA DIAZ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

---

**Dr. David Campos Gutiérrez  
PRESIDENTE**

---

**Dra. Ana Aguilar Gálvez  
MIEMBRO**

---

**Mg.Sc. Fanny Ludeña Urquiza  
MIEMBRO**

---

**Mg.Sc. Gloria Pascual Chagman  
ASESOR**

---

**Mg.Sc. Carlos Elías Peñafiel  
COASESOR**

Lima – Perú  
2018

## **DEDICATORIA**

- A mis padres Luis Alberto Breña Valdivia y Maria Rosario Diaz Soto por darme la vida, la mejor educación y su apoyo incondicional en el transcurso de mi vida universitaria y de este trabajo de investigación.
- A mi hermano Luis Breña Diaz por su apoyo, consejos y desearme lo mejor en cada paso de mi vida.
- A mi abuela Esther Soto Miranda que lamentablemente no pudo ver este logro, pero donde se encuentra nos cuida a todos.
- A todos los amigos que conocí en esta gran universidad y que de alguna manera contribuyeron en mi desarrollo personal y profesional.

## AGRADECIMIENTO

- A mi madre Maria Rosario Diaz Soto por su apoyo y amor incondicional para la culminación de este trabajo de investigación.
- A la Ing. Gloria Pascual Chagman y al Ing. Carlos Elías Peñafiel por su paciencia, consejos, apoyo, así como brindarme su tiempo para asesorarme y culminar correctamente este trabajo de investigación.
- A los técnicos de los laboratorios de la Facultad de Industrias Alimentarias de la UNALM, Don Máximo Zuñiga, Zahara Prudencio, el señor Juan del TAPA y la Ing. Liz Ávila.
- Al Instituto Nacional de Investigación Agraria que financió la presente investigación a través del proyecto: Investigación biotecnológica de la cadena productiva de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) mediante innovación fitotécnica de 30 ecotipos procesamiento integral del grano y validación de métodos de análisis cualitativo y cuantitativo de alcaloides y proteínas N<sup>0</sup> de contrato 022-2015-INIA-PNIA/UPMSI/IE-.

# ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1.	ANTECEDENTES HISTÓRICOS .....	3
2.2.	SITUACION ACTUAL.....	4
2.3.	MATERIA PRIMA .....	4
2.3.1.	TARWI.....	4
2.3.2.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	5
2.3.3.	CONDICIONES AGRONÓMICAS .....	5
2.3.4.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO .....	6
2.4.	ACEITE DE TARWI.....	7
2.5.	PROTEÍNAS VEGETALES .....	8
2.6.	PROTEÍNA DEL TARWI Y AMINOÁCIDOS.....	9
2.7.	DESAMARGADO DE LUPINO .....	11
2.7.1.	REMOJO .....	13
2.7.2.	COCCIÓN .....	13
2.7.3.	LAVADO .....	14
2.8.	CONCENTRADO PROTEICO .....	14
2.9.	AISLADO PROTEICO.....	15
2.10.	EXTRACCION DE PROTEINAS .....	16
2.11.	FACTORES IMPORTANTES PARA LA EXTRACCION PROTEICA .....	17
2.11.1.	SOLUBILIDAD.....	17

2.11.2. SOLVENTES DE EXTRACCIÓN.....	18
2.11.3. PH.....	18
2.11.4. CONTENIDO GRASO .....	18
2.11.5. TEMPERATURA.....	19
2.11.6. INFLUENCIA DE LA RELACIÓN MATERIA PRIMA/SOLVENTE.....	19
2.12. PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS .....	19
2.13. CLASIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES: .....	22
2.13.1. SOLUBILIDAD.....	22
2.13.2. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA) .....	24
2.13.3. CAPACIDAD EMULSIFICANTE (CE) Y ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN (EE) .	24
2.13.4. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA).....	25
2.13.5. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA (CFE) Y ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (EES).....	26
2.13.6. CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN (CG) .....	26
2.14. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PROTEINAS .....	27
2.14.1. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LOWRY .....	27
2.14.2. Método de Kjeldahl.....	28
2.15. USOS Y APLICACIONES DE LOS AISLADOS PROTEICOS.....	29
III. MATERIALES Y METODOS .....	31
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	31
3.2. MATERIA PRIMA .....	31
3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS .....	31
3.3.1. EQUIPOS.....	31

3.3.2. MATERIALES .....	32
3.3.3. REACTIVOS .....	32
3.4. METODOS DE ANALISIS .....	33
3.4.1. ANÁLISIS PROXIMAL .....	33
3.4.2. DETERMINACION DE PROTEINA SOLUBLE .....	33
3.4.3. EVALUACIÓN DE PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES .....	34
3.4.4. DETERMINACION DEL COLOR .....	36
3.5. METODOLOGÍA .....	36
3.5.1. ACONDICIONAMIENTO DE LOS GRANOS DESAMARGADOS .....	37
3.5.2. EXTRACCIÓN PROTEICA .....	38
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	41
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	44
4.1. MATERIA PRIMA .....	44
4.1.1. ANÁLISIS PROXIMAL DE LOS GRANOS DE TARWI SIN DESAMARGAR... ..	44
4.1.2. OBTENCIÓN DE HARINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA .....	45
4.2. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE EXTRACCION DE LA PROTEINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA .....	46
4.2.1. EXTRACCIÓN PROTEICA .....	46
4.2.2. PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA .....	50
4.3. LAVADO DEL PRECIPITADO PROTEICO .....	52
4.4. SECADO POR ATOMIZACION .....	52
4.5. COMPOSICION DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI .....	52

<b>4.6. PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DEL AISLADO PROTEICO DE TORTA DE TARWI .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6.1. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA) .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6.2. SOLUBILIDAD (SOL) .....</b>	<b>57</b>
<b>4.6.3. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA).....</b>	<b>59</b>
<b>4.6.4. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA (CFE).....</b>	<b>61</b>
<b>4.6.5. ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (EES).....</b>	<b>63</b>
<b>4.6.6. CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN (CG) .....</b>	<b>67</b>
<b>4.6.7. CAPACIDAD DE EMULSIÓN (CE) Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN (EE) ....</b>	<b>68</b>
<b>4.7. COLOR DEL AISLADO PROTEICO .....</b>	<b>70</b>
<b>4.8. POTENCIALES USOS DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.....</b>	<b>72</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>73</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>74</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>75</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>82</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición química del grano de Tarwi.....	6
Cuadro 2: Comparación de ácidos grasos del aceite de Tarwi y otros aceites vegetales .	7
Cuadro 3: Composición proximal de las 4 principales especies de lupino (porcentaje en base seca).....	10
Cuadro 4: Perfil de aminoácidos de la proteína de <i>Lupinus mutabilis</i> (gramos de aminoácido/ 16 gramos N) .....	11
Cuadro 5: Propiedades funcionales típicas de las proteínas .....	20
Cuadro 6: Propiedades tecno-funcionales de los aislados proteicos .....	30
Cuadro 7: Análisis químico proximal de granos de tarwi sin desamargar y harina de torta de tarwi desgrasada .....	45
Cuadro 8: Composición química proximal del aislado proteico de tarwi .....	53
Cuadro 9: Valores de escala de color CIE $L^*$ $a^*$ $b^*$ y WI para la torta de tarwi, harina desgrasada de tarwi y aislado proteico de tarwi .....	71
Cuadro 10: Usos potenciales del aislado proteico de tarwi .....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Reacción entre las proteínas y el reactivo de Lowry .....	28
Figura 2: Proceso de obtención de tarwi desamargado .....	37
Figura 3: Flujo de operaciones para la obtención del aislado proteico de tarwi .....	39
Figura 4: Diseño Experimental de la Metodología de Investigación .....	42
Figura 5: Efecto del pH en la extracción de proteína de torta de tarwi .....	47
Figura 6: Efecto de la relación harina desgrasada/solvente en la extracción de proteína de torta de tarwi.....	48
Figura 7: Efecto de la temperatura en la extracción de proteína de torta de tarwi .....	49
Figura 8: Efecto del tiempo en la extracción de proteína de torta de tarwi.....	50
Figura 9: Determinación del punto isoelectrico (pI) de la proteína de torta de tarwi.....	51
Figura 10: Parámetros finales con los cuales se obtiene el aislado proteico de torta de tarwi .....	54
Figura 11: Determinación de la CRA del aislado proteico de torta de tarwi.....	56
Figura 12: Perfil de solubilidad de la proteína de torta de tarwi .....	58
Figura 13: Capacidad de formación de espuma a concentraciones de 0.5%, 0.75%, 1% y diferentes pH.....	61
Figura 14: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 6 .....	64
Figura 15: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 7 .....	65
Figura 16: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 8 .....	65

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: TARWI O LUPINO EN BANDEJAS LISTO PARA DESHIDRATAR .....	82
ANEXO 2: TARWI DESHIDRATADO LISTO PARA LA MOLIENDA .....	82
ANEXO 3: TARWI TAMIZADO EN MALLA 20 PARA DESPUÉS REALIZAR LA EXTRACCIÓN DE ACEITE .....	83
ANEXO 4: TORTA Y ACEITE DE TARWI DURANTE LA EXTRACCIÓN EN EXPELLER .....	83
ANEXO 5: TORTA DE TARWI OBTENIDA DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE .....	84
ANEXO 6: EXTRACCIÓN PROTEICA DE LA HARINA DESGRASADA DE TARWI .....	84
ANEXO 7: EQUIPO UTILIZADO PARA LA FILTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PROTEICA.....	84
ANEXO 8: EXTRACTOS PROTEICOS LISTOS PARA LA PRECIPITACIÓN .....	85
ANEXO 9: EXTRACTOS PROTEICOS AJUSTADOS A PH CERCANO AL PUNTO ISOELÉCTRICO.....	85
ANEXO 10: COAGULO PROTEICO LISTO PARA SER LAVADO CON AGUA Y ALCOHOL.....	85
ANEXO 11: AISLADO PROTEICO EN POLVO OBTENIDO DURANTE EL PROCESO DE ATOMIZACIÓN.....	86
ANEXO 12: CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA A DIFERENTES CONCENTRACIONES (PH 8).....	86
ANEXO 13: DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD PROTEICA DE EXTRACTOS PROTEICOS .....	86

ANEXO 14: DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA).....	87
ANEXO 15: DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD GELIFICANTE A DIFERENTES CONCENTRACIONES (5%, 10%, 15% Y 20% RESPECTIVAMENTE) .....	87
ANEXO 16: CURVA ESTÁNDAR DE SOLUCIÓN DE ALBÚMINA MEDIANTE EL MÉTODO DE LOWRY .....	88
ANEXO 17: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL PH DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA.....	88
ANEXO 18: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO PH .....	89
ANEXO 19: RESULTADOS PARA DETERMINAR LA RELACIÓN HARINA DESGRASADA/SOLVENTE DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA.....	89
ANEXO 20: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO HARINA DESGRASADA/SOLVENTE .....	90
ANEXO 21: RESULTADOS PARA DETERMINAR LA TEMPERATURA DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA.....	90
ANEXO 22: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO TEMPERATURA.....	91
ANEXO 23: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL TIEMPO DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA.....	91
ANEXO 24: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO TIEMPO .....	92
ANEXO 25: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL PUNTO ISOELÉCTRICO DE LA PROTEÍNA DE TARWI.....	92
ANEXO 26: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL PUNTO ISOELÉCTRICO .....	93

ANEXO 27: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 0.5 POR CIENTO.....	93
ANEXO 28: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 0.7 POR CIENTO.....	93
ANEXO 29: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 1 POR CIENTO.....	94
ANEXO 30: CALCULO DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA) DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI.....	94
ANEXO 31: CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL .....	95
ANEXO 32: CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL .....	95
ANEXO 33: CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL .....	96
ANEXO 34: ESTABILIDAD DE ESPUMA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL .....	96
ANEXO 35: CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL .....	97
ANEXO 36: CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL.....	97

## RESUMEN

Se desamargó, secó, molió y extrajo aceite por Expeller de tarwi; obteniéndose el subproducto de la extracción (torta de tarwi) al cual se le extrajo la proteína obteniendo un aislado proteico. Éste se obtuvo aplicando el método de extracción alcalina y precipitación isoeléctrica. Las variables evaluadas para la extracción proteica fueron: pH; harina desgrasada/solvente; temperatura y tiempo, siendo los mejores parámetros para la extracción proteica 10.5; 1:25; 50 °C y 60 minutos respectivamente. Además, se evaluó el punto isoeléctrico, siendo el más adecuado a pH 4.6. Posteriormente se lavó el precipitado con soluciones hidroalcohólicas, se ajustó el pH a 7 y fue sometido a secado por atomización obteniéndose el aislado proteico en polvo. Las propiedades tecno funcionales determinadas para el aislado proteico de tarwi fueron: máxima solubilidad (87.74% a pH 8) y mínima solubilidad (19.31% a pH 4); capacidad de retención de agua máxima (3.74 g de agua/ g de aislado a pH 2) y capacidad de retención de agua mínima (1.86 g de agua/g de aislado a pH 4); capacidad de formación de espuma 51.18 por ciento (a pH 8 y 1% de concentración); estabilidad de espuma alrededor de 30 por ciento (1% de concentración y después de 120 minutos); capacidad de gelificación de 15 por ciento; capacidad emulsificante 63.38 por ciento; estabilidad de emulsión 50.51 por ciento e índice de blancura 59.59. Siendo las mejores propiedades la capacidad de retención de agua, la capacidad emulsificante y la estabilidad de emulsión.

**Palabras clave:** Torta de tarwi, extracción alcalina, solubilidad proteica, precipitación isoeléctrica, aislado proteico, propiedades tecno-funcionales.

## ABSTRACT

Lupin was debittered, dried, ground and extracted oil by Expeller de tarwi; obtaining the by-product of the extraction (tarwi cake) to which the protein was extracted obtaining a protein isolate. This was obtained by applying the alkaline extraction method and isoelectric precipitation. The variables evaluated for protein extraction were: pH; defatted / solvent flour; temperature and time, obtaining the best parameters for protein extraction 10.5; 1/25; 50 °C and 60 minutes respectively. In addition, the isoelectric point was evaluated, being the most appropriate at pH 4.6. Afterwards the precipitate was washed with hydroalcoholic solutions, pH was adjusted to 7 and it was subjected to spray drying obtaining the protein isolate in powder form. The techno-functional properties determined for lupin protein isolate were: maximum solubility (87.74% at pH 8) and minimum solubility (19.31% at pH 4); maximum water holding capacity (3.74 g of water / g of isolate at pH 2) and minimum water holding capacity (1.86 g of water / g of isolate to pH 4); foaming capacity 51.18 percent (at pH 8 and 1% concentration); foam stability around 30 percent (1% concentration and after 120 minutes); gelification capacity of 15 percent; emulsifying capacity 63.38 percent; emulsion stability 50.51 percent and whiteness index 59.59. The best properties are water retention capacity, emulsifying capacity and emulsion stability.

**Keywords:** Lupin cake alkaline extraction, protein solubility, isoelectric precipitation, protein isolate, techno-functional properties.

## I. INTRODUCCIÓN

Las proteínas vegetales juegan un rol importante en la nutrición humana, particularmente en los países en desarrollo donde la ingesta promedio de proteínas es menor a la requerida (Barac *et al.*, 2010). Las proteínas son componentes importantes de los alimentos, cuyas fuentes tanto de origen vegetal como animal, han sido estudiados con detalle debido a su gran importancia nutricional y comercial. La Industria Alimentaria ha recurrido en forma habitual a la utilización de productos proteicos con fines tecnológicos y funcionales. A partir de esta necesidad, se desarrollaron distintos procesos para extraer proteínas obteniéndose los concentrados y aislados proteicos (Scopes, 2013).

El chocho o tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) es una leguminosa de origen andino, de importancia estratégica en la alimentación por su alto contenido de proteína para una población que se desarrolla aceleradamente, ya que resulta económico para la mayoría de los habitantes rurales o urbanos, esta leguminosa es rica en aceites no saturados, proteínas, calcio, fósforo, hierro y vitaminas como niacina y tiamina (Berti *et al.*, 2013).

El tarwi ha sido cultivado en el Perú desde la época preincaica, siendo un cultivo originario de los Andes y por lo tanto cultivado y utilizado desde la antigüedad por el poblador andino que basaba su alimentación en esta leguminosa. El departamento de Ancash es su mayor productor y consumidor; su semilla es una fuente proteica y además de esta se extrae aceite. Como subproducto de esta extracción se obtiene una torta desgrasada que luego se transforma en harina, la cual representa uno de los reservorios de proteínas con mayor potencial para la industria alimentaria humana (Ortega *et al.*, 2010).



La Industria aceitera obtiene aceite de buena calidad a partir de las oleaginosas, dejando como residuo la torta. Ésta es un problema para la industria en términos de costos de almacenaje y emisión de residuos contaminantes ya que esta torta es guardada hasta su venta por periodos de tiempo prolongados, generando contaminación ya que propicia la presencia de insectos y roedores poniendo en riesgo la salud de los trabajadores y personas cercanas (Mercado, 2012). Sin embargo, el mismo autor sostiene que la torta tiene un alto contenido de proteínas que pueden ser aprovechadas con procesos de extracción relativamente sencillos y así obtener aislados proteicos con tenores de proteínas del 90 por ciento.

Se definen las propiedades tecno-funcionales como las propiedades fisicoquímicas que afectan el procesamiento y el comportamiento de la proteína en un sistema alimenticio, la que es juzgada por la calidad del producto final. Las propiedades tecno-funcionales más interesantes en el procesamiento de los alimentos son: solubilidad, capacidad de retención de agua, capacidad de absorción de aceite, capacidad emulsificante, capacidad de formación de espuma y capacidad de gelificación (Eltayeb *et al.* 2011). La presente investigación busca aprovechar la torta desgrasada, sometiéndola a una extracción alcalina evaluando los parámetros: pH de extracción, relación materia prima: solvente de extracción, la temperatura y tiempo de extracción; de tal manera que con los mejores parámetros determinar sus propiedades tecno-funcionales.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Ortega *et al.* (2010) afirma que el lupino o tarwi es una leguminosa extremadamente antigua originaria de los Andes. En el territorio nacional, su cultivo data desde hace más de tres mil años. Vásquez citado por Muzquiz *et al.* (2011) señala evidencias de su existencia desde la época del incanato, donde fue utilizado como alimento básico. Luego de la llegada de los españoles, los lupinos fueron reemplazados en forma paulatina por otras leguminosas. Ortega *et al.* (2010) indican que se encontraron restos de *L. mutabilis* en tumbas de la cultura Nazca como ofrenda a los muertos (100-500 AC).

Desde sus inicios el *L. mutabilis* en Perú se ha utilizado para autoconsumo cultivado en parcelas pequeñas por los pobladores andinos y sus excedentes vendidos en ferias locales y regionales (Aguilar, 2015). El cultivo y producción de *L. mutabilis* ha tenido un antes y un después del año 1977 con el convenio entre el gobierno de Perú y la República Federal de Alemania para implementar el proyecto “Cultivo y Aprovechamiento de los lupinos” (Muzquiz *et al.*, 2011). Hasta antes de ese convenio el cultivo de *L. mutabilis* en Perú era mínimo, el área cosechada y producción por 16 años (1961-1976) era un promedio de 1200 hectáreas y 1300 toneladas anuales respectivamente, sin percepción de incremento alguno (FAO, 2013). A partir de 1977 se dió el gran salto del lupino, en solo tres años (1977-1979) se incrementó el área cultivada a más del doble, de 1200 a 4500 hectáreas la producción se cuadruplicó de 1300 a 5200 toneladas anuales con rendimientos promedio de 1.1 toneladas por hectárea (FAO, 2013).

Apartir de los años mencionados en el Perú se presentaron muchas investigaciones entre las cuales fueron de extracción de extracto etéreo, ácidos grasos, proteínas, factores antinutricionales (ácido cianhídrico, hemaglutinina, inhibidor de tripsina, alcaloides por cromatografía), tecnología de desamargado (desamargado con alcohol y agua). La cadena

productiva del lupino estuvo encaminada y completa, ya que se aperturaron plantas piloto de proceso y comercialización de *L. mutabilis* en Cañete y Piura. Sin embargo, desde 1980 la cadena productiva del lupino fue debilitada y quebrada por muchos factores como el cambio climático y tecnológico, después se empezó su inconstancia y decaimiento (Huaringa, 2010).

## **2.2. SITUACION ACTUAL**

La cadena productiva del *L. mutabilis* de Perú en la actualidad ha caído en una nueva situación de estancamiento. Según la FAO (2013) desde el año 2000 hasta el 2011 el área cosechada de *L. mutabilis* en Perú permanece dentro del rango de 8000 a 9000 hectáreas de cultivo anuales con niveles de producción de 9000 toneladas anuales y un rendimiento de 1 tonelada por hectárea; la misma situación sufrida en el periodo de 1983 a 1993.

Los mayores rendimientos en el extranjero se pueden atribuir a un mayor territorio de cultivo en esos países. No hay duda de que el cultivo de *L. mutabilis* peruano que alguna vez estuvo en la cúspide internacional por su elevado valor proteico y extracto etéreo ahora está quedando rezagado por otros países (Huaringa, 2010).

Analizando el sector de tecnología de transformación se observa una decadencia total en nuevas investigaciones y más aún se está descuidando el estudio de los miles de genotipos que viene desarrollando el sector agro. Hace falta un impulso de investigación y divulgación sobre las nuevas potencialidades nutritivas del lupino y mejoramiento de su tecnología de transformación; de solucionar dicho problema la cadena productiva del *L. mutabilis* volvería a incrementarse como ya se observa en otros lugares y como lo registran los antecedentes históricos de la región (Cosio *et al*, 2010).

## **2.3. MATERIA PRIMA**

### **2.3.1. TARWI**

El tarwi es una leguminosa de alto crecimiento que se emplea como una fuente de proteína en la nutrición de personas y animales ya que contienen sustancias anti mutagénicas, anticancerígenas, hipocolesterolémicas, compuestos fenólicos antioxidantes y oligosacáridos prebióticos que favorecen la proliferación de bifidobacterias (Jiménez *et al.*; citado por Carvajal *et al.*, 2012).

El chocho o tarwi es originario de la zona andina de Sudamérica, leguminosa de alto valor nutricional que se distingue por su alto nivel de proteína (>40%).

Camarena *et al.* (2012) menciona que el tarwi tiene la siguiente categoría taxonómica:

- Reino : Vegetal
- Clase : *Papilionacea*
- Subclase : *Dicotyledoneace*
- Orden : *Fabacea*
- Familia : *Leguminosae*
- Género : *Lupinus*
- Especie : *Mutabilis*
- Nombre científico: *Lupinus mutabilis Sweet*

Los granos de tarwi son excepcionalmente nutritivos; su proteína es rica en lisina, un aminoácido esencial presente en cantidades limitadas en muchas otras fuentes vegetales. Tiene un alto contenido de grasas que en la mayor parte de su composición posee ácidos grasos beneficiosos para la salud. Con todo ello, el tarwi es una planta cuyas propiedades nutricionales, en algunos casos, supera a la soya, considerada esta última como la fuente proteica y oleaginosa más importante a nivel mundial (Suca, 2016).

### **2.3.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA**

Camarena *et al.* (2012) afirma que, con respecto a su raíz, ésta es pivotante, profundizadora, con nudos nitrificantes que fijan el nitrógeno atmosférico a la planta y pueden extenderse hasta tres metros de profundidad. Además, el tallo es semileñoso, cilíndrico, en cuyo interior presenta un tejido esponjoso con abundante ramificación, cuya altura dependiendo del ecotipo oscila entre 50 y 280 cm; sus hojas son digitadas, compuestas y además sus flores tienen a la típica forma de papilionáceas; la corola está formada por cinco pétalos y la quilla envuelve el pistilo y a los diez estambres.

### **2.3.3. CONDICIONES AGRONÓMICAS**

Camarena *et al.* (2012) afirma que el grano es una vaina alargada de cinco a 12cm, pubescente y contiene de tres a ocho granos, estos son ovalados, comprimidos a la superficie y con una amplia variabilidad en cuanto al color, el mismo que va desde blanco puro hasta negro; en cuanto a sus condiciones agronómicas el autor sostiene que el tarwi es una

leguminosa de alto contenido nutritivo, que se distingue por su contenido de proteína y por sus características agronómicas como: rugosidad, capacidad de fijar nitrógeno atmosférico al suelo, adaptabilidad a medios ecológicos más secos con un tipo de suelo como franco arenoso o arenoso así como a climas fríos, pH 5.5 a 7, altura entre 2800 y 3500 msnm y lluvias de 300 mm de precipitación a una temperatura de 7 a 14 °C.

Una de las ventajas del Tarwi es su amplio margen de adaptación a diferentes altitudes, lugares en donde otros cultivos no prosperarían. Actualmente, el tarwi se produce en terrenos ubicados desde 1500 a 3800 msnm; a esto habría que sumar su capacidad de fijación de nitrógeno en cantidades apreciables de 100 kg/ha anual, restituyendo la fertilidad del suelo por lo tanto con los altos precios y la escasez de fertilizantes el tarwi puede llegar a ser muy importante al momento de rotar cultivos (Jacobsen y Mujica; citado por Suca, 2016).

#### 2.3.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO

El cuadro 1 muestra la composición química del grano de Tarwi según Camarena *et al.* (2012):

**Cuadro 1: Composición química del grano de Tarwi**

<b>COMPONENTES TARWI</b>	<b>TARWI AMARGO</b>	<b>TARWI DESAMARGADO</b>
Proteína %	47.8	54.05
Grasa %	18.9	21.22
Fibra %	11.07	10.37
Cenizas %	4.52	2.54
Humedad %	10.13	7.05
ELN %	17.62	11.82
Alcaloides %	3.26	0.03
Azucares totales %	1.95	0.73
Azucares reductores %	0.42	0.61
Almidón total %	4.34	2.88
K %	1.22	0.022
Mg %	0.24	0.07
Ca %	0.12	0.48
P %	0.60	0.43

«continuación»

<b>COMPONENTES TARWI</b>	<b>TARWI AMARGO</b>	<b>TARWI DESAMARGADO</b>
Fe %	78.45	74.25
Zn %	42.84	63.21
Mn %	36.72	18.47
Cu %	12.65	7.99

FUENTE: Camarena *et al.* (2012)

#### 2.4. ACEITE DE TARWI

Uno de los componentes más valiosos en la semilla de Tarwi es su aceite el cual está contenido entre 14-24 por ciento de su peso, el cual al ser comparado con otras semillas oleaginosas; a la única que tiene un contenido similar es a la soya (Porras *et al.* 2013).

Por su alto contenido de aceite la extracción de aceite del tarwi es muy factible a nivel industrial, con respecto a su calidad esta es muy similar al maní y a la soya. En el aceite de Tarwi se ha comprobado que los ácidos grasos insaturados son los predominantes, siendo el principal el ácido oleico considerado muy importante desde el punto fisiológico nutricional (Diaz citado por Porras *et al.* 2013). Además Sosa (2000) sostiene que con respecto a la concentración de ácido linolénico en el aceite de tarwi, ésta es muy baja; característica que favorece a la conservación del aceite debido a que este ácido se oxida rápidamente pudiendo ocasionar sabores desagradables en el aceite.

En el cuadro 2 se muestra la comparación de ácidos grasos en el aceite de Tarwi y otros aceites vegetales:

**Cuadro 2: Comparación de ácidos grasos del aceite de Tarwi y otros aceites vegetales**

<b>ÁCIDOS GRASOS</b>	<b>TARWI</b>	<b>OLIVA</b>	<b>SOYA</b>	<b>GIRASOL</b>	<b>ALGODÓN</b>	<b>COLZA</b>	<b>PALMA</b>
Láurico	-	Trazas	Trazas	-	0.1	-	0.2
Mirístico	1.3	0.1	0.2	0.3	0.7-1.0	0.1	0.5-1.5
Palmítico	13.2	7.2	9.9- 12.2	5.6-7.4	21.4-26.4	2.8-5.1	43.1- 46.3

«continuación»

ÁCIDOS GRASOS	TARWI	OLIVA	SOYA	GIRASOL	ALGODÓN	COLZA	PALMA
Esteárico	4.7	1.0-3.0	3.6-5.4	3.0-6.3	2.3-3.2	0.7-1.3	4.0-5.5
Aráquico	Trazas	0.1-0.7	0.2-0.6	0.3-0.8	0.2-0.4	0.2-1.0	0.1-0.4
Palmitoleico	1.4	1.3-3.0	0.2	0.1	0.3-1.1	0.2-0.9	0.2-0.4
Oleico	42.5	62.5	17.7-25.5	14.0-34.0	17.7-21.4	9.8-49.8	36.7-40.4
Linoleico	34.1	-	50.5-56.5	55.5-73.2	46.7-57.7	13.0-22.9	9.4-11.9
Linolénico	3.1	2.6	5.5-9.5	Trazas	0.1-0.2	7.9-10.3	0.1-0.4

FUENTE: Porras *et al.* (2013)

## 2.5. PROTEÍNAS VEGETALES

Jayasena *et al.* (2010) afirma que las proteínas vegetales constituyen una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, explotándose tanto las propiedades tecno-funcionales como los beneficios nutricionales de cada grupo de proteínas. Las cuales se obtienen principalmente de leguminosas, cereales, oleaginosas y en baja proporción de hojas verdes.

La disponibilidad en grandes cantidades de fuentes proteicas vegetales como la harina desgrasada de oleaginosas, junto con la tendencia a reducir la ingesta de proteínas animales hace que en los últimos años se esté produciendo un gran desarrollo en los procesos de extracción y mejora de estas proteínas vegetales para su uso en la alimentación humana; por lo tanto en este aspecto durante los próximos años se producirá un incremento en la disponibilidad de nuevas fuentes proteicas vegetales y en la transformación de estas para su aplicación con fines alimenticios conforme a las demandas nutricionales (Vioque *et al.*; citado por Onsaard *et al.* 2010).

Además de sus propiedades alimenticias, las proteínas vegetales también poseen propiedades tecno-funcionales, como cuajarse, formar geles y emulsificar lo cual juega un

papel muy importante en la formulación de comidas y su procesamiento. Sin embargo al igual que en las proteínas animales, los factores intrínsecos (composición de aminoácidos), extrínsecos (Temperatura, solvente, pH) o factores ambientales pueden influir en las propiedades de estas proteínas (Klupsaite y Juodeikiene, 2015).

Barac *et al.* (2010) afirma que con respecto a las proteínas vegetales; las proteínas de cereales son pobres en lisina y en algunos casos deficientes en triptófano y treonina, usualmente los granos de las oleaginosas y las nueces son escasos en metionina y lisina, mientras que las leguminosas suelen ser pobres en metionina. El aminoácido indispensable que resulte más deficiente con relación a las necesidades se llama “ aminoácido limitante”.

## **2.6. PROTEÍNA DEL TARWI Y AMINOÁCIDOS**

OOMah y Bushuk citado por Onsaard *et al.* (2010) indican que existen variaciones considerables en la composición química de las distintas variedades de las especies de *Lupinus*, siendo las dos especies de lupino más usadas (*Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus* cuya variación proteica fluctúa entre 37 y 50 por ciento. Sin embargo, el lupino contiene alcaloide del grupo quinolizidínico considerados como sustancias antinutritivas.

La proteína es uno de los componentes más importantes del lupino. Perú tiene la ventaja de poseer una de las especies de lupino con mayor contenido de proteína que otras especies. Además las proteínas de *L.mutabilis* se encuentran en mayor proporción en la semilla que en la cáscara (45.26 y 5.35 por ciento respectivamente) lo cual permite un mejor manejo del grano en su aspecto tecnológico (Berti *et al.*, 2013). Según Arauco (2011) *Lupinus mutabilis* es la especie de lupino con mayor contenido proteico (cerca del 50 por ciento) frente a otras cultivadas en Europa y América; pueden existir o aparecer otras especies europeas con elevado contenido proteico, como el caso de *Lupinus luteus* de Polonia que también posee contenido de 40 a 50 por ciento, sin embargo, muchas de ellas provienen de centro de mejoramiento genético.

El Tarwi es un alimento sobresaliente a nivel nutricional por su alto contenido de proteínas, cantidad muy superior a la soya. Además, contiene lisina, un aminoácido esencial en la absorción de calcio y la construcción de tejido muscular (Porrás *et al.* 2013).

La proteína del Tarwi contiene cantidades adecuadas de lisina y leucina que son aminoácidos esenciales, por lo que se considera apropiado para los niños en etapa de crecimiento, mujeres



embarazadas y durante la lactancia; además al mezclar este alimento con algunos cereales se logra una excelente complementación de aminoácidos cuyo valor proteico es comparable al de los alimentos de origen animal como la leche, el queso, la carne y el huevo (Laurente, 2016).

El Cuadro 3 muestra la composición proximal de las 4 principales especies de grano de lupino:

**Cuadro 3: Composición proximal de las 4 principales especies de lupino (porcentaje en base seca)**

<b>ESPECIE</b>	<b>PROTEINA CRUDA</b>	<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	<b>FIBRA CRUDA</b>	<b>CENIZA</b>	<b>ELN</b>
<i>Lupinus albus</i>	36.7	11.5	9.8	3.4	37.8
<i>Lupinus angustifolius</i>	31.1	6.0	14.7	3.5	43.1
<i>Lupinus luteus</i>	41.8	5.4	15.8	4.1	35.0
<i>Lupinus mutabilis</i>	42.6	18.7	7.3	3.7	27.3

FUENTE: Gross citado por Arauco (2011)

Al mencionar proteínas es necesario diferenciar definiciones entre proteína cruda y proteína soluble. La mayoría de la literatura reporta proteína cruda (proteína total), por su parte la proteína soluble forma parte de la proteína cruda. De acuerdo con la metodología, la determinación de proteína cruda por Kjeldhal se basa en la cuantificación de nitrógeno presente en la muestra digerida hidrolizada mientras que la proteína soluble por su lado cuantifica netamente proteína no hidrolizada mediante diversos métodos como Lowry, Biuret o Bradford los cuales se basan en solubilizar las proteínas no digeridas en solventes salinos y luego mediante reacción colorimétrica medir su concentración (Pearson citado por Compaore *et al.* 2011).

Respecto a otras leguminosas cultivadas en Perú, todas poseen un contenido de proteína muy inferior al lupino (23-27 %) y la soya por su parte no alcanza el 40 por ciento de proteína; por lo tanto, dentro de las leguminosas en base al contenido proteico el *Lupinus mutabilis* ocupa el primer lugar (Erbas *et al.*, citado por Camarena *et al.* 2012). El autor además menciona que las proteínas que se encuentran presentes en la mayoría de los lupinos son las

globulinas y albúminas. Según Cheftel citado por Mercado (2012) menciona que estas proteínas son importantes porque participan en procesos biológicos principalmente transporte, protección y reserva.

**Cuadro 4: Perfil de aminoácidos de la proteína de *Lupinus mutabilis* (gramos de aminoácido/ 16 gramos N)**

<b>NOMBRE DEL AMINOÁCIDO</b>	<b>SEMILLAS COCIDAS Y DESAMARGADAS</b>	<b>SEMILLAS CRUDAS DE TARWI</b>	<b>PROTEINA DE REFERENCIA FAO</b>
Isoleucina	5.3	4.8	4.0
Leucina	7.9	7.0	7.0
Lisina	5.6	5.9	5.5
Metionina	0.5	0.4	2.0
Cisteína	1.4	1.2	-
Fenilalanina	4.2	4.3	-
Tirosina	3.9	3.6	-
Treonina	3.6	3.8	4.0
Triptófano	0.7	0.7	1.0
Valina	4.5	4.2	5.0

FUENTE: Schoeneberger *et al.* (2015)

## **2.7. DESAMARGADO DE LUPINO**

El principal obstáculo para utilizar el lupino a escala industrial ha sido su alto contenido de sustancias amargas, conocidas como alcaloides quinolizidínicos por lo tanto su consumo masivo ha sido imposibilitado debido a esta limitación. Sin embargo, estas sustancias se pueden extraer através de un proceso de desamargado que demora días de tratamiento y que consiste en un proceso de cocción y remojo a fin de extraer los alcaloides y tornar comestibles los granos (Suca, 2016). Carvajal *et al.* (2012) corrobora lo mencionado afirmando que el lupino ha sido mucho menos estudiado y cultivado que la soya debido a su alto contenido de alcaloides los cuales son tóxicos para las personas pero que le dan a la planta de lupino alta resistencia a infecciones microbiológicas y ataques de insectos. Bonilla y Calderón (2017) mencionan que el tarwi o chocho es un alimento nutritivo, saludable y

natural; sin embargo tiene como principal obstáculo para el consumo humano la presencia de alcaloides quinolizidínicos, los cuales son tóxicos y dan sabor amargo por lo tanto para reducir el riesgo de intoxicación se debe aplicar un proceso de desamargado.

El aprovechamiento del tarwi en el mundo se ha limitado por la presencia de sustancias tóxicas, debido principalmente a que las semillas poseen en su estructura alcaloides quinolizidínicos que le confieren cierto grado de toxicidad y un sabor fuertemente amargo; estas sustancias protegen a la planta en el medio e impiden que la semilla sin tratamiento pueda ser aprovechada para su consumo. Por lo tanto, las investigaciones se han ocupado en eliminar dichas sustancias esencialmente con enfoques agronómicos y en segundo plano con enfoques industriales (Rodríguez citado por Gutiérrez *et al.* 2016).

Hatzold citado por Araneda (2012) reporta un rango de contenido de alcaloides en tarwi que va de 2.56 (g/100g) hasta 4.14 (g/100g), además menciona que los granos que fueron llevados originariamente del Perú a Europa, obtuvieron un porcentaje alto de alcaloides (4.2 por ciento) lo cual se considera en mayor desventaja en términos de calidad comestible de la semilla. Gross *et al.*, citado por Suca (2016) reporta que la lupanina es el alcaloide principal de tarwi, constituyendo 80 por ciento del total de alcaloides presentes, además de estar acompañado de tetrahidrorombifolina, 4-hidroxilupanina y 13-hidroxilupanina como componentes menores.

Actualmente el lupino andino se detoxifica mediante lavados sucesivos con agua que eliminan ésta sustancia hasta niveles que permitan su consumo (Ortega *et al.* 2010).

La eliminación de alcaloides es el punto de partida cuando se trabaja con el lupino; desde hace varios años investigadores han logrado eliminar alcaloides por las siguientes técnicas: Selección genética, desamargado y obtención de aislados proteicos (Berti *et al.* 2013).

Conociendo que la mayor forma de consumo de lupino en Perú (zonas altoandinas y gastronomía) es la del lupino desamargado como semillas y harina, esto por su accesible procesamiento, bajo costo y presencia en el mercado. Se puede afirmar que el desamargado resulta el método de eliminación de alcaloides más accesible tanto para el consumidor convencional y mercado empresarial (Glorio citado por Camarena *et al.* 2012). Este autor afirma que el remanente que queda después del desamargado, niveles por debajo del 0.02 por ciento (base húmeda), serían eliminados a través de la vía digestiva y urinaria no

observándose efectos nocivos. El método de desamargado es una técnica que se basa netamente en tres etapas básicas (remojo, cocción y lavado).

### **2.7.1. REMOJO**

La mayoría de las publicaciones acerca del desamargado de tarwi incluyen una etapa inicial de remojo de los granos que puede llegar a durar hasta 20 horas para que este sea hidratado completamente y permita extraer los alcaloides en etapas posteriores (Gutiérrez *et al.* 2016).

El remojo o hidratación es básicamente el contacto de la semilla con agua a temperatura ambiente por un tiempo determinado con la finalidad de acondicionar la semilla de lupino, como su nombre lo indica permite la hidratación de los tejidos del grano y así facilitar la salida de los alcaloides (Meneses *et al.*, citado por Araneda, 2012).

El remojo se puede dar de dos maneras, en agua estacionaria o en agua en circulación. En el remojo de agua estacionaria se considera parámetros de control básicos: Relación materia prima: agua y tiempo. Algunos investigadores reportan para el remojo diversas proporciones de materia prima; agua (1:2.5, 1:4, 1:5 y 1:6) y tiempos variables (24 y 48 horas) (Araneda, 2012).

Suca (2015) afirma que el remojo o hidratación es una etapa preparatoria que tiene como finalidad incrementar el contenido de agua de los granos y facilitar la extracción de los alcaloides en etapas posteriores, por lo tanto es imprescindible para realizar una adecuada eliminación de estos compuestos antinutricionales.

### **2.7.2. COCCIÓN**

La etapa de cocción es la etapa más importante del desamargado convencional de semillas de tarwi debido a que inactiva tanto la capacidad de germinación del grano así como sus enzimas (lipasa y lipoxigenasa) además de eliminar a los microorganismos presentes (Suca, 2015). Lo mencionado por el autor concuerda con Gutiérrez *et al.* (2016) que afirma que la etapa de cocción tiene como objetivo inactivar las enzimas germinativas y deterioradoras (lipasa y lipoxigenasa) del grano, disminuir la carga microbiana superficial, reducir la pérdida de proteínas debido a la coagulación e incrementar la lixiviación de los alcaloides mediante el aumento de la permeabilidad de la pared celular.

Araneda (2012) también afirma que la cocción es la etapa clave en el proceso de desamargado de lupino, ya que se realizan muchas reacciones bioquímicas ventajosas como

la destrucción del poder germinativo y desintegración de las moléculas de los alcaloides facilitando su extracción.

### **2.7.3. LAVADO**

Se llama lavado o extracción a la etapa final del proceso de desamargado de lupino, donde el grano cocido permanece en agua en reposo con cambios de agua periódica o en agua en circulación por un determinado tiempo a temperatura ambiente. En la etapa de lavado se completa la salida de alcaloides por solubilización durante el tiempo de su permanencia (Suca, 2015).

El tarwi o chocho desamargado es un producto de fácil incorporación en la gastronomía de las diferentes regiones, siendo un candidato ideal para aprovechar las oportunidades que ofrece el mercado a las proteínas vegetales debido no solo a su elevado contenido proteico y digestibilidad sino también por contener una buena cantidad de beta conglutinas con potencial bioactivo para la reducción de niveles de glucosa (Camarena *et al.* 2012).

Estudios de laboratorio afirman que los lavados con agua son mucho más adecuados debido a que es económico y eficiente al extraer alcaloides, además su uso tiene ventajas como la prevención de la contaminación ambiental con productos químicos y no requiere la recuperación de solventes orgánicos (Carvajal *et al.* 2012).

## **2.8. CONCENTRADO PROTEICO**

El concentrado proteico contiene un mínimo de 70 por ciento de proteína en base seca, se extrae a partir de harina desgrasada, con la eliminación de compuestos solubles no proteicos presentes, obteniendo un producto rico en azúcares insolubles y proteínas (Scopes, 2013).

Sosa citado por Mercado (2012) afirma que los métodos aplicados en la extracción de concentrados proteicos son:

- Extracción de compuestos no proteicos mediante el uso de agua ajustada al punto isoeléctrico (pI) de las proteínas.
- Extracción de compuestos no proteicos con agua después de un tratamiento térmico.
- Extracción de compuestos no proteicos mediante el empleo de soluciones hidroalcohólicas.

La principal diferencia en estos métodos radica en la insolubilización de las proteínas ocasionada en los dos últimos procesos. La menor concentración de oligosacáridos se logra

con la precipitación isoelectrica, mientras los porcentajes más bajos en lípidos se alcanzan con mezclas hidroalcohólicas (Onsaard *et al.* 2010).

## **2.9. AISLADO PROTEICO**

Los aislados proteicos son productos comerciales altamente purificados que contienen proteína concentrada con más del 80 por ciento, teniendo en la generalidad de los casos la misma composición química, sin embargo sus propiedades tecno-funcionales pueden ser diferentes ya que existen aislados proteicos con varios grados de solubilidad y que se usan en la elaboración de diferentes productos alimenticios (Badui citado por Mercado, 2012).

La Industria Alimentaria está haciendo énfasis en la producción y utilización de proteínas vegetales como ingredientes tecno-funcionales y nutricionales en una variedad de productos formulados. Alternativamente, las funciones de las proteínas vegetales ofrecen flexibilidad en alimentos formulados debido a su economía y disponibilidad (Mercado, 2012). Jayasena *et al.* (2010) reporta que un aislado proteico es la forma más refinada de obtención de proteína, el aislado proteico tiene un mínimo de 90 por ciento (base seca) llegando normalmente a 95 por ciento.

Para cada proceso, existen parámetros que influyen en los resultados del proceso, el entendimiento y la buena manipulación de dichos parámetros garantizan la idoneidad de los resultados. En este caso, existen varios parámetros que gobiernan la obtención de los aislados proteicos, sin embargo, solo algunas de ellas son muy influyentes en los resultados, siendo éstas el pH de extracción, relación harina: solvente y temperatura de extracción. Además, también influye el tiempo de agitación, número de extracciones entre otros factores (Onweluso *et al.*, citado por Jayasena *et al.* 2010).

El proceso de obtención de un aislado proteico supone una serie de etapas encaminadas a eliminar o disminuir los componentes no proteicos para lograr un producto final con el 80-90 por ciento de proteínas (Porrás *et al.*, 2013).

Sosa citado por Mercado (2012) sostiene que un aislado proteico comercial posee 88 por ciento de proteína, 6 por ciento de humedad, 4.5 por ciento de cenizas y 1.5 por ciento de carbohidratos, fibra y grasa. Con respecto a sus usos autores como Saavedra y Algecira (2010) han incluido proteína aislada de soya en la formulación de las películas comestibles mejorando sus propiedades mecánicas y su desempeño como recubrimiento en fresas.

## 2.10. EXTRACCION DE PROTEINAS

Vioque *et al.*, citado por Porras *et al.* (2013) mencionan que la obtención de aislados proteicos a partir de la harina desengrasada de oleaginosas tiene como objetivo principal la eliminación lo más completa y selectiva posible de los compuestos solubles no proteicos presentes en la harina desengrasada, como resultado se obtendrá un producto rico en azúcares insolubles y proteínas.

Akaerue y Onwuka (2010) reportan que en la solubilización de la proteína intervienen al menos cuatro factores simultáneamente: pH, fuerza iónica, temperatura y presencia de iones calcio. Los pHs alcalinos producen una máxima solubilidad de la proteína; sin embargo a partir del pH 11 se provoca una racemización de los aminoácidos y la formación de puentes covalentes intra o intermoleculares disminuyendo la solubilidad a pH extremos, las temperaturas bajas son preferidas pues son poco desnaturizantes.

Araneda (2012) reporta que las concentraciones elevadas de alcaloides producen un sabor amargo, y que tienen algunos efectos farmacológicos reportados. Gueguen y Cerletti citado por Mercado (2012) mencionan que cualquier posible efecto de los alcaloides se elimina durante la preparación de aislados proteicos, ya que los alcaloides son solubles en agua y se eliminan durante el proceso. Akaerue y Onwuka (2010) mencionan que así como la soya se han estudiado diversas proteínas de oleaginosas (colza, sésamo, girasol, maní y coco); de granos pobres en aceite (habas, guisantes, garbanzos, judías) y de algunas otras leguminosas; de cereales (trigo y maíz) y de hojas (alfalfa). Según Fennema citado por Mercado (2012) las proteínas poseen multitud de propiedades físicas y químicas, es difícil delimitar el papel que cada una de ellas juega en una determinada propiedad tecno-funcional.

López *et al.* citado por Mercado (2012) afirma que el secado por atomización permite la obtención de productos en forma de polvo y ofrece una alta eficiencia y la capacidad de conservar los componentes naturales presentes en estos productos. El uso de aditivos inertes como la maltodextrina favorece la recuperación del producto ya que actúan como coadyuvante del secado. Los productos en polvo suelen ser de fácil manipulación y generalmente rápida reconstitución, debido a que ocupan menor espacio y a que tienen mayor vida de almacenamiento, en ocasiones su uso se hace más conveniente.

## **2.11. FACTORES IMPORTANTES PARA LA EXTRACCION PROTEICA**

### **2.11.1. SOLUBILIDAD**

Muchas de las propiedades funcionales son dependientes del grado de solubilidad proteica. Desde el punto de vista termodinámico la solubilización corresponde a una disociación simultánea de las moléculas del disolvente y de las moléculas de proteínas, previa a una dispersión de estas últimas en el disolvente, con una superficie interfacial de máximo contacto entre la proteína y el disolvente (Eltayeb *et al.* 2011).

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 citado por Butt, 2010).

Se ha dado gran importancia a la hidrofobicidad de los polipéptidos y se ha visto que esta influye mucho en la solubilidad; ya que la solubilización de una proteína viene impuesta por la hidrofilia e hidrofobia de la superficie de ésta, que contacta con el agua del entorno. Cuanto menor sea el número de zonas hidrofóbicas de la superficie mayor es la solubilidad (Eltayeb *et al.* 2011).

Los datos sobre las características de solubilidad son muy útiles para poder determinar las condiciones óptimas de extracción y purificación de la proteína, así como para la separación de fracciones proteicas. Además, como la solubilidad de las proteínas está íntimamente relacionada con sus estados estructurales, se usa con frecuencia para medir el grado de desnaturalización durante los procesos de extracción, aislamiento y purificación (Fennema citado por Mercado, 2012).

La desnaturalización por el calor modifica el perfil de solubilidad de las proteínas frente al pH ya que la modificación del perfil de solubilidad inducida por la desnaturalización por el calor se debe al incremento de la hidrofobia superficial de la proteína debido al desplegamiento alterando el equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente a favor de las primeras (Jayasena *et al.* 2010).



### **2.11.2. SOLVENTES DE EXTRACCIÓN**

La adición de algunos disolventes, tales como el etanol o la acetona a una solución acuosa de proteína disminuye la constante dieléctrica del medio; de esta forma disminuyen las fuerzas electrostáticas de repulsión entre las moléculas proteicas lo que contribuye a su agregación y precipitación. Estos disolventes entran así en competencia con las moléculas de agua y por lo tanto pueden reducir la solubilidad de las proteínas (Hassan *et al.* 2010). Para el caso de la soya, se han usado una gran variedad de solventes acuosos para extraer proteínas de la harina desgrasada de soya. De todos los solventes investigados, agua más álcali diluido (pH 7-9) y soluciones acuosas de NaCl (0.5-2M) están entre los más eficientes para extraer proteínas (Adrianzen *et al.* 2011). No obstante, el empleo de álcalis se ha reportado como uno de los más atractivos, ya que permite obtener productos con buenas propiedades funcionales y buen rendimiento proteico a costos muy razonables (Eltayeb *et al.* 2011).

### **2.11.3. PH**

El pH es muy importante cuando se requiere extraer proteínas debido a que según Fennema citado por Jayasena *et al.* (2010) el procedimiento de extracción proteica más comercial se basa en la solubilización de las proteínas en un medio alcalino; sin embargo, si el medio es demasiado alcalino esto puede contribuir a una desnaturalización completa de la proteína por lo tanto es muy importante tenerlo en cuenta. Además, Zhang *et al.* (2009) citado por Hassan *et al.* (2010) afirma que la proteína en cuanto es solubilizada se precipita en su punto isoeléctrico (pH en el cual son iguales los números de cargas positivas y cargas negativas que aportan los grupos ionizables de la molécula proteica) donde se eliminan componentes no proteicos como carbohidratos solubles y sales.

### **2.11.4. CONTENIDO GRASO**

Golcalves *et al.* citado por Mercado (2012) reportan que los lípidos presentes en los aislados proteicos pueden ocasionar olores rancios, así como sabores amargos y astringentes. Así mismo pueden incrementar la retención de los componentes resultantes de la propia oxidación lipídica, reduciendo el valor nutricional de las proteínas; por estas razones es necesario extraer la mayor cantidad del aceite de la materia prima a extraer proteína siendo óptimo obtener un contenido de aceite menor al 0.5 por ciento, el cual está dentro del rango reportado para otras harinas desgrasadas para el mismo fin.

### **2.11.5. TEMPERATURA**

A pH y a fuerza iónica constante, un incremento de temperatura alrededor de 40 °C mejora la solubilidad de las proteínas. Las temperaturas más altas conllevan a su desnaturalización y a la exposición de residuos hidrófobos inicialmente encerrados en el interior de la estructura. La solubilidad disminuye de manera importante por aumento de las fuerzas de atracción entre las proteínas (Jeantet *et al.* 2010).

### **2.11.6. INFLUENCIA DE LA RELACIÓN MATERIA PRIMA/SOLVENTE**

La cantidad de materia prima a solubilizar en el sistema influye significativamente en la composición y cantidad porcentual de la proteína recuperada, sin embargo el solvente (solución extrayente que es ajustada a pH de extracción) debe ser adecuado para que no se saturen los componentes proteicos solubilizados, lo que indica que es de vital importancia determinar la relación apropiada para que sea adecuado entre la cantidad de disolvente y la cantidad de proteína a solubilizar (Eltayeb *et al.*, 2011).

## **2.12. PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS**

Para la incorporación de aislados o concentrados proteicos en productos alimenticios, estas proteínas deben poseer ciertas propiedades tecno-funcionales, cuyos requerimientos varían con los diferentes tipos de alimentos. Las propiedades tecno-funcionales de las proteínas son aquellas características fisicoquímicas que influyen de un modo característico sobre la apariencia física y el comportamiento de un producto alimenticio, siendo las más importantes las propiedades emulsificantes, solubilidad, capacidad de gelificación, absorción de agua, absorción de aceite y propiedades organolépticas especialmente color y sabor (Olalekan *et al.*, citado por Barac *et al.* 2010).

Cheftel *et al.*, citado por Mercado (2012) mencionan que el término “propiedad tecno-funcional” se define como toda propiedad no nutricional que influencia la utilidad de un ingrediente en un alimento. La mayor parte de las propiedades tecno-funcionales influyen sobre el carácter sensorial del alimento (en especial la textura) pero también puede tener un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento.

La funcionalidad es definida como alguna de las propiedades de las proteínas aparte de su valor nutricional, que influye en su empleo. En una definición más completa se definen las

propiedades funcionales como las propiedades fisicoquímicas que afectan el procesamiento y el comportamiento de la proteína en un sistema alimenticio, la que es juzgada por la calidad del producto final; esto refleja una interacción compleja entre la composición, estructura, conformación, propiedades fisicoquímicas con otros componentes y la naturaleza del medio ambiente donde se encuentran (Boye *et al.* 2010).

Lampart citado por Mercado (2012) afirma que las propiedades tecno-funcionales están relacionadas con las características físicas y químicas de las proteínas: tamaño, forma, composición, cadena de aminoácidos, carga neta y distribución de las cargas; relación hidrofobicidad/hidroficidad; estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, el grado de flexibilidad-rigidez y la capacidad de interactuar con otros componentes.

Vioque y Millan citados por Barac *et al.* (2010) mencionan que las proteínas representan uno de los componentes principales de los alimentos, tanto desde un punto de vista tecno-funcional como nutricional, por ejemplo, determinan las propiedades físicas y organolépticas de muchos alimentos. Así, la consistencia y textura de la carne, queso o pan depende en gran medida de la naturaleza de las proteínas que los constituyen.

En el Cuadro 5 se muestran las principales propiedades funcionales de las proteínas en determinado sistema alimenticio según Boatella citado por Jayasena *et al.* (2010):

**Cuadro 5: Propiedades funcionales típicas de las proteínas**

<b>PROPIEDAD FUNCIONAL</b>	<b>MODO DE ACCION</b>	<b>SISTEMA ALIMENTICIO</b>
Solubilidad	Solubilidad de la proteína a pHs diferentes.	Bebidas
Absorción de agua y fijación de agua	Enlace hidrogeno de HOH (no gotea). Fija H <sub>2</sub> O	Carnes, embutidos, panes y cakes
Viscosidad	Espesante. Fijador de agua.	Sopas, salsas
Gelificación	Formador de matriz proteica, endurecedor.	Carnes, cuajos, quesos
Cohesión-adhesión		Carnes, embutidos, pastas

«continuación»

<b>PROPIEDAD FUNCIONAL</b>	<b>MODO DE ACCION</b>	<b>SISTEMA ALIMENTICIO</b>
Elasticidad	La proteína actúa como material adhesivo	Carnes, productos de pastelería
Emulsificación	Enlaces hidrofóbicos en gluten, enlaces disulfuro en geles (deformables)	Embutidos, bologna, sopas, cakes
Adsorción de grasa	Formación y estabilización de emulsiones de grasa	Carnes, embutidos
Espumante	Fijación de grasa libre Forma redes estables para atrapar geles	Cubiertas batidas de postres, cakes, chifón

FUENTE: Boatella citado por Jayasena *et al.* (2010)

En alimentos elaborados con una presencia menor de proteínas, pueden jugar un papel muy importante, influyendo en características tecno-funcionales como la formación de emulsiones, geles, espumas y la absorción de agua o aceite, además las proteínas también constituyen un aporte nutricional importante, representando una fuente de energía, nitrógeno y aminoácidos esenciales (Mercado, 2012).

Las propiedades de las proteínas no están determinadas únicamente por su origen, sino también influyen las condiciones de procesamiento y la presencia de otros componentes (Zhang *et al.*, citado por Barac *et al.* 2010).

Jayasena *et al.* (2010) destacaron la necesidad de evaluar las propiedades tecno-funcionales a un rango de niveles de pH debido a que el pH tiene influencia en la flexibilidad de la proteína, que a su vez es esencial en la retención de agua y la reducción de la tensión interfacial, estas dos capacidades son cruciales para las capacidades emulsionantes y espumantes de las proteínas. Además, los mismos autores afirman que las propiedades tecno-funcionales son determinadas por la presencia de globulinas y albúminas.

### **2.13. CLASIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES:**

De acuerdo con Damodaran citado por Mercado (2012) las propiedades funcionales de las proteínas se clasifican en tres grupos principales:

- Propiedades de hidratación (dependencia de la interacción proteína-agua): Llamadas también propiedades hidrodinámicas; pertenecen la absorción y retención de agua, humectabilidad, hinchamiento, adhesión, dispersabilidad, solubilidad y la viscosidad. Dependen del tamaño, forma y flexibilidad molecular.
- Propiedades relacionadas con las interacciones proteína-proteína, participan los fenómenos de precipitación, gelificación y otras estructuras (por ejemplo, fibras y pastas proteicas)
- Propiedades superficiales; se refiere a la tensión superficial y características espumantes de las proteínas.

Las propiedades tecno-funcionales varían si las proteínas se encuentran en su estado nativo o desnaturalizado por ejemplo, debido a un fuerte tratamiento térmico. Por esta razón es muy importante considerar el método de obtención de las proteínas, debido a que, si implica tratamientos severos dichas propiedades se modificarán notoriamente (Virginia citado por Klupsaite *et al.* 2015).

#### **2.13.1. SOLUBILIDAD**

Pilosof y Bartholomai citado por Mercado (2012) afirma que la solubilidad es una propiedad de suma importancia que gobierna el comportamiento tecno-funcional de las proteínas y su aplicación en alimentos procesados.

Akaerue y Onwuka (2010) sostiene que la solubilidad es difícil de definir, ya que las proteínas en medio acuoso pueden formar una verdadera solución, una solución coloidal o una suspensión estable de partículas insolubles. Badui citado por Mercado (2012) menciona que 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.

La conformación de una proteína en disolución depende considerablemente de su interacción con el agua, no solo por la presencia de agua, sino también por la actividad de esta; es más

los concentrados y purificados proteicos deben hidratarse inmediatamente antes de ser usados. El estado final de la proteína soluble o insoluble (total o parcialmente) está relacionado también con propiedades funcionales importantes tales como la solubilidad o la solubilidad instantánea, en la que las primeras cinco etapas transcurren rápidamente (Eltayeb *et al.* 2011).

Las proteínas reaccionan entre sí con el agua por sus enlaces peptídicos (dipolo-dipolo, enlaces hidrogeno) o por las cadenas laterales de los aminoácidos (interacción con los grupos ionizados, polares e incluso no polares); algunas de estas interacciones son dadas por: enlaces hidrogeno, interacciones hidrófobas e interacciones iónicas (Cheftel *et al.*, citado por Barac *et al.* 2010). Además, según este autor la solubilidad depende fundamentalmente del pH, fuerza iónica, tipo de disolvente y temperatura. Según Fennema citado por Mercado (2012) muchas de las propiedades tecno-funcionales dependen en un mayor o menor grado de la solubilidad de la proteína, además las proteínas altamente solubles pueden ser requeridas en aplicaciones en las cuales la emulsificación, batido y formación de películas son importantes.

A menudo la desnaturalización tiene una repercusión negativa porque implica la pérdida de algunas de las propiedades tecno-funcionales, como en el caso de proteínas alimentarias que pierden solubilidad; aunque en otras ocasiones algún grado de desnaturalización es deseable que ocurra, debido a que generalmente las hace más digeribles y mejora sus propiedades de emulsión y espumantes (Eltayeb *et al.* 2011). Según Moure *et al.*, citado por Mercado (2012) la solubilidad de una proteína suele verse afectada por su carácter hidrófilo o hidrófobo, dependiendo de la composición de sus aminoácidos, en particular en la superficie de la proteína.

El conocimiento de la solubilidad de las proteínas es un importante factor en la selección de una proteína vegetal particular para su posible aplicación industrial como en la producción de adhesivos, películas protectoras, producción de fibras, emulsificantes, aditivos alimentarios y diferentes productos alimentarios que dependen de la adición de materiales proteicos en solución (Akaerue y Onwuka, 2010).

### **2.13.2. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)**

Kinsella citado por Akaerue y Onwuka (2010) sostiene que la retención de agua connota aquella agua que es retenida por una proteína después de una filtración y de la aplicación de una presión moderada o fuerza centrífuga. Afirmado además que la retención de agua por parte de los polvos puede explicarse por las pequeñas cantidades de agua ligada fuertemente estructurada.

La CRA de las proteínas es un índice importante en la evaluación del comportamiento de éstas como ingredientes en productos de panadería, industrias cárnicas y geles alimentarios; por lo tanto esta propiedad no solo afecta las condiciones del procesamiento sino también la calidad final de los productos (Abugoch citado por Mercado, 2012). Según Barac *et al.* (2010) la retención de agua por los ingredientes proteicos, tienen un papel fundamental en la calidad de la textura de diversos alimentos, especialmente carnes trituradas y pastas de panadería.

Los cambios de pH, a través de su influencia sobre la ionización y la magnitud de la carga neta de la molécula proteica alteran las fuerzas interactivas, atractivas y repulsivas de la proteína y modifican su aptitud para asociarse con el agua (Fennema citado por Mercado, 2012). Además, Klupsaite *et al.* (2015) afirma que la hidratación es una característica importante en la elaboración de productos horneados y productos cárnicos; ya que las mismas propiedades funcionales de las proteínas que determinan la absorción de agua total, pueden controlar la retención de agua después del horneado o la contracción durante el proceso de cocción.

### **2.13.3. CAPACIDAD EMULSIFICANTE (CE) Y ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN (EE)**

Hung y Zayas citado por Barac *et al.* (2010) definen la capacidad emulsificante como la cantidad de aceite emulsificado por cierta unidad de muestra hasta un punto de colapso de la emulsión y a la estabilidad de la emulsión es la capacidad del emulsificador para estabilizar una emulsión algunas veces en condiciones normales y otras bajo ciertas condiciones de stress (incubación, centrifugación, alta temperatura, mezclado, etc).

La capacidad emulsificante de las proteínas solubles se basa en el balance hidrofílico-lipofílico de la molécula, el cual determina la afinidad por el aceite y el agua (Taboada citado por Mercado, 2012). Wagner citado por Mercado (2012) afirma que el proceso de formación

de una emulsión consiste en crear área interfacial entre dos líquidos inmiscibles, generalmente agua y aceite mediante trabajo mecánico. Una emulsión es un sistema termodinámicamente inestable y tiende a desestabilizarse por diferentes mecanismos (cremado, floculación, desproporción, coalescencia e inversión de fases), resultando en la separación parcial o total de las fases inmiscibles.

Makri *et al.*, citado por Mercado (2012) mencionan que las proteínas siendo los agentes de superficie activa pueden formar y estabilizar la emulsión mediante la creación de repulsión electrostática en la superficie de las gotas de aceite. Según Onsaard *et al.* (2010) la estabilidad de las gotas emulsificadas es lograda por la formación de una capa cargada situada alrededor de los glóbulos de grasa, causando repulsión mutua; esta capa protectora previene la coalescencia de las gotas.

#### **2.13.4. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA)**

Schoeneberger *et al.* (2015) sostienen que la CAA es la unión mediante cadenas laterales no polares de las proteínas con cadenas hidrocarbonadas de aceite, lo que resulta en una buena absorción de aceite; además de que esta propiedad de las proteínas es muy importante para la formulación de productos para freír y para la retención de sabores. Así mismo, disminuye el desarrollo de la rancidez oxidativa y en consecuencia aumenta la estabilidad durante el almacenamiento.

La CAA es atribuida a un atrapamiento de aceite por parte de un número de cadenas no polares de las proteínas con enlaces hidrocarbonados de las cadenas de ácidos grasos del aceite; la diferencia entre la CAA de diferentes proteínas se debe a la variación de la composición de aminoácidos y parámetros como la hidrofobicidad de estos, el grado de desnaturalización y el tamaño y flexibilidad de la proteína (Onsaard *et al.* 2010).

La habilidad de las proteínas para unir aceite se aprovecha principalmente en productos donde se desea reemplazar carne, ya que se emplea como extensores debido al incremento en la retención de sabor y aromas, mejorando la sensación en la boca cuando se consume el producto. Valores altos de CAA en aislados proteicos, indica la posibilidad de emplearlos como ingredientes en la industria de productos cárnicos fríos, en particular para salchichas donde la CAA y CRA son propiedades determinantes para desarrollar un alimento de calidad aceptable (Ogunwulo *et al.*, citado por Klupsaite *et al.* 2015).



### **2.13.5. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA (CFE) Y ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (EES)**

Se entiende por espuma a una dispersión de burbujas de gas en una fase líquida o semisólida. La espuma es una dispersión coloidal formada por acumulaciones de un gas rodeadas por un líquido o un sólido, que contiene un agente de actividad de superficie, soluble (Fennema citado por Saavedra, 2010). Según Badui citado por Mercado (2012) la CFE es una propiedad de superficie, donde la proteína actúa como agente tensoactivo, disminuyendo la tensión superficial en la interfase gas-líquido. La formación de espumas con proteínas implica un proceso de desnaturalización controlada; ya que este polímero se tiene que desdoblarse 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 se determina midiendo la velocidad de filtración del líquido de la espuma o la velocidad de disminución del volumen de la espuma en el tiempo (Butt y Batool, 2010).

La presencia de lípidos modifica las propiedades reológicas de la interfase. Desde un punto de vista fisicoquímico, la estabilización de las espumas y las emulsiones de las proteínas se basa en la formación de una capa viscoelástica resistente que adsorba las interfaces de aire-agua y aceite-agua. Esta fuerza de la capa adsorbida depende del grado de interacción entre las moléculas de proteína vecinas (Boye *et al.* 2010). Según Mepba *et al.*, citado por Mercado (2012) las espumas se utilizan para mejorar la textura, la consistencia y la apariencia de los alimentos y se encuentran comúnmente en repostería y son importantes en aplicaciones alimentarias tales como pasteles, bebidas, merengues, coberturas y helados.

### **2.13.6. CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN (CG)**

Pomeranz citado por Laurente (2016) menciona que la gelificación consiste en la transformación de una proteína de estado sol a estado gel; se ve favorecida por: calor, enzimas o cationes divalentes en condiciones adecuadas. Todos estos agentes inducen a la formación de una estructura en red tridimensional.

Schoeneberger *et al.* (2015) afirman que generalmente la CG requiere del calentamiento de la disolución proteica, lo que provoca una desnaturalización de las proteínas y se forma el progel. Durante esta etapa la proteína se despliega y se expone a un número crítico de grupos funcionales e inicia la constitución de la red tridimensional. Según Mercado (2012) no es necesaria una alta solubilidad proteica para que el gel se forme, ya que la gelificación no solo depende de la cantidad de proteína sino también del tipo de proteína y de los componentes no proteicos.

El tipo de gel formado por una proteína viene determinado por sus propiedades moleculares en la disolución. Las proteínas ricas en aminoácidos apolares sufren agregaciones hidrofóbicas tras la desnaturalización; estos agregados insolubles se asocian luego al azar y forman un gel irreversible tipo coagulo (Cheftel *et al.*, citado por Mercado, 2012).

La importancia de los geles y de los procesos de gelificación para la Industria Alimentaria es innegable debido a que en los alimentos la gelificación de componentes cumple muchas funciones, particularmente en relación con la textura, la estabilidad y afectan en especial medida a las condiciones de procesamiento; esta importancia es grande ya que la demanda de productos bajo en grasa ha potenciado el desarrollo de alimentos en donde se sustituye parcialmente la grasa por sistemas gelificados en base acuosa con textura adecuada (Onsaard *et al.* 2010).

## **2.14. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PROTEINAS**

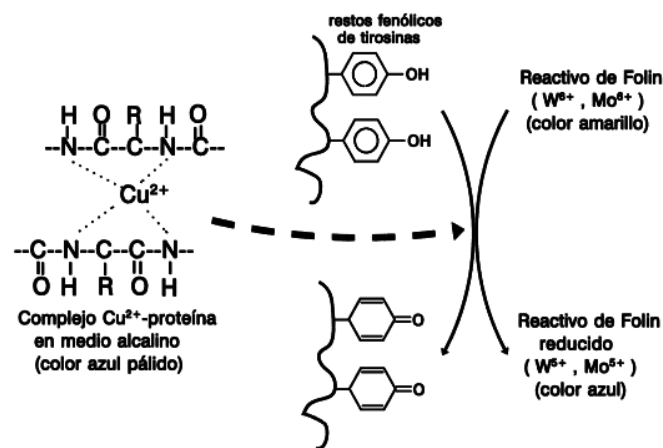
### **2.14.1. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LOWRY**

Es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas; en la cual a la muestra se añade un reactivo que forma un complejo coloreado con las proteínas, siendo la intensidad de color proporcional a la concentración de las proteínas según la ley de Lambert y Beer (Lowry, 1951).

De acuerdo con Lowry (1951) este método consta de dos etapas:

1. Los iones  $\text{Cu}^{+2}$  en medio alcalino se unen a las proteínas formando complejos en los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos  $\text{Cu}^{+2}$ -proteína tienen un color azul claro. Además, provocan el desdoblamiento de la estructura tridimensional de la proteína, exponiendo los residuos fenólicos de tirosina que van a participar en la segunda etapa de reacción. Gracias al tartrato el  $\text{Cu}^{+2}$  se mantiene en solución alcalina en forma de su complejo.

2. La reducción del reactivo de Folin Ciocalteu, también ocurre en medio básico por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina, los cuales están presentes en la mayoría de las proteínas; actuando el cobre como catalizador. El principal constituyente del reactivo de Folin Ciocalteu es el ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo, que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso; midiéndose las absorbancias en un espectrofotómetro a 750 nm.



**Figura 1: Reacción entre las proteínas y el reactivo de Lowry**

FUENTE: Lowry (1951)

#### 2.14.2. Método de Kjeldahl

Nollet citado por Mercado (2012) afirma que el método se basa en la determinación de la cantidad de nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios, comprometiendo dos pasos consecutivos:

- La descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado.
- El registro de la cantidad de amoníaco obtenida de la muestra.

En la mezcla de digestión se incluye sulfato de sodio para aumentar el punto de ebullición y un catalizador para acelerar la reacción, tal como sulfato de cobre. El amoníaco en el destilado se retiene o bien por un ácido normalizado y se valora por retroceso, o en ácido bórico y valora directamente. Sin embargo, el método Kjeldahl no determina todas las formas de nitrógeno a menos que se modifiquen adecuadamente. Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a

amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La recuperación del nitrógeno y velocidad del proceso pueden ser incrementados adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición o por la adición de oxidantes y por la adición de un catalizador (Pearson citado por Arauco, 2011).

## **2.15. USOS Y APLICACIONES DE LOS AISLADOS PROTEICOS**

Existen una gran variedad de aislados de soya disponibles comercialmente, diseñados específicamente para proporcionar las características deseadas según el alimento de que se trate. La mayoría de las aplicaciones tienen lugar en alimentos tradicionales que ya tienen establecidos una serie de parámetros de utilización y calidad; los requerimientos exigidos por el consumidor determinan el grado de sustitución proteica (Vioque *et al.*, citado por Jayasena *et al.* 210).

Los aislados proteicos tienen un gran número de aplicaciones; los aislados proteicos vegetales se utilizan de acuerdo con sus propiedades tecno-funcionales. Muchos se emplean para aclarar el color, mejorar la textura de carnes o aves deshuesadas, para proporcionar textura a salchichas, mejorar la funcionalidad de pates y mejorar la textura de productos de panadería y pastas, por último también se han utilizado en el procesamiento de quesos (El Sayed citado por Akaerue *et al.* 2010).

Jiménez y Dávila citado por Mercado (2012) mencionan que desde la década de los 30 se han incorporado proteínas de leguminosas en la alimentación humana, a través de la obtención y uso de concentrados y aislados proteicos con mayor contenido y pureza de proteína. En estas condiciones es posible disminuir el contenido de fibra, carbohidratos, grasa y disminuir o eliminar los factores tóxicos y/o antinutricionales presentes en todas las leguminosas.

Barac *et al.* (2010) afirma que el método Kjeldahl es el más comúnmente utilizado para la determinación de nitrógeno orgánico basado en una volumetría ácido-base en el cual la muestra se descompone en caliente mediante ácido sulfúrico concentrado en presencia de un agente reductor catalizador, de esta forma aumenta la temperatura de trabajo lo cual favorece la descomposición; el tratamiento transforma el nitrógeno de la muestra en iones amonio donde la posterior adición de una base fuerte lo libera como amoníaco el cual es arrastrado hasta un frasco colector por destilación en corriente de vapor.

El cuadro 6 muestra las propiedades tecno-funcionales de los aislados proteicos y los alimentos más relacionados para que tengan éxito en los diferentes productos a los que se realice su incorporación.

**Cuadro 6: Propiedades tecno-funcionales de los aislados proteicos**

<b>ALIMENTO</b>	<b>PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES</b>
Bebidas	Solubilidad a pHs diferentes, estabilidad al color.
Productos Lácteos (quesos, helados, postres)	Absorción de agua, emulsificación, espumado y pardeamiento.
Productos Cárnicos (salchicha, hamburguesa, chorizo, jamonadas)	Emulsificación, gelificación, cohesión, absorción, retención de agua, retención de lípidos.
Productos similares a las carnes (proteína vegetal extruida)	Absorción y retención de agua y aceite, firmeza, masticabilidad, cohesión.
Recubrimientos alimenticios	Cohesión, adhesión.
Productos de confitería y chocolatería	Dispersabilidad, emulsificación.
Masa de panadería	Formación de una matriz y de una película que tenga propiedades de viscoelasticidad, cohesión, desnaturalización por el calor, gelificación.

FUENTE: Cheftel, citado por Mercado (2012)

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Industrias Alimentarias ubicados en la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### **3.2. MATERIA PRIMA**

Se utilizó como materia prima semillas de tarwi del ecotipo Altagracia cultivadas en Ancash, variedad elegida en la evaluación de 30 ecotipos según criterios agronómicos entre los cuales destaca su rápida madurez de cosecha (200 días), su gran capacidad de fijar nitrógeno a los suelos y su rendimiento por hectárea (5938 kg/ha). Esta evaluación y la obtención de los datos mencionados fueron realizados por el programa de leguminosas de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### **3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS**

Los equipos y materiales que se utilizaron en la presente investigación fueron los siguientes:

##### **3.3.1. EQUIPOS**

- Agitador magnético (Velp Científica, Are, Italia)
- Atomizador (Lab Plant, SD Basic, Estados Unidos)
- Balanza Analítica (OHAUS, S/M, Estados Unidos)
- Balanza de Precisión (OHAUS, MB35, Estados Unidos)
- Balanza Infrarroja (OHAUS, Traveler TA3001, Estados Unidos)
- Centrífuga con refrigerante (Hettich, Rotofix 3C, Alemania)
- Centrífuga (Z6, LSZ491LZ207, Italia)
- Digestor para 6 balones (marca Reles, DPL1D100. España)
- Colorímetro (Kónica, Minolta 400, Estados Unidos)
- Destilador de Nitrógeno (Velp Científica, UDK129, Italia)
- Equipo tamizador o Zaranda vibratoria (JEL, S/M, Alemania)
- Equipo Homogenizador (Velp Científica, Ultra Turrax Ove, Italia)
- Equipos MicroSoxhlet (Lauda, Alpha RA8, Italia)

- Espectrofotómetro (Spectronics, Genesys 20, Alemania)
- Estufa Eléctrica (Therma Automics, S/M, Estados Unidos)
- Expeller (Monforts, VFD-B, Alemania)
- Marmita con capacidad de 12 litros (Herrera, S/M, Perú)
- Molino de Martillos (Vulcano, S/M, Perú)
- Molino manual de discos (S/M, S/M, Perú)
- Potenciómetro (Hanna, Hr2211, México)
- Refrigerador (LG, GM351QC, Colombia)
- Secador de Bandejas (S/M, S/M, Perú)
- Vórtex (Velp Científica, Wizard, Italia)

### **3.3.2. MATERIALES**

- Baguetas
- Beackers
- Desecador
- Envases ámbar de 250 ml
- Espátulas y cucharas metálicas
- Fiolas de 10, 100 y 1000ml
- Micropipeta de 0.1 a 1 ml (Brand, Transferpette, Alemania)
- Papel Filtro rápido y lento
- Pipetas
- Probetas
- Tamices números 20 (850um) y 60 (250um)
- Tubos de centrífuga
- Tubos de ensayo

### **3.3.3. REACTIVOS**

- Ácido Clorhídrico p.a (J.T.Baker, USA)
- Ácido Sulfúrico p.a (J.T.Baker, USA)
- Carbonato de sodio p.a. (J.T.Baker, USA)
- Etanol de 96° (Suministros Científicos, Perú)
- Éter de petróleo (Sigma-Aldrich, Alemania)
- Hidróxido de sodio p.a (Spectrum, USA)

- Maltodextrina (Frutarom, Perú)
- Reactivo de Folin-Ciocalteu Comercial (Himedia, USA)
- Albúmina de suero de bovino p.a (Oxoid, Inglaterra)
- Sulfato de cobre pentahidratado p.a (Fermont, México)
- Tartrato sódico-potásico p.a (Fermont, México)

### **3.4. METODOS DE ANALISIS**

#### **3.4.1. ANÁLISIS PROXIMAL**

Los análisis de la torta, harina de torta desgrasada y aislado proteico constan de:

- ◆ Determinación de humedad por el método AOAC (2005), 950.46.
- ◆ Determinación de proteína bruta (N x 6.25) por el método AOAC (2005), 984.13.
- ◆ Determinación de Grasa por el método de AOAC (2005), 2003.05.
- ◆ Determinación de Fibra cruda por el método de AOAC (2005), 962.09.
- ◆ Determinación de Ceniza por el método de AOAC (2005), 942.05.
- ◆ Determinación de carbohidratos (por diferencia MS-INN Collazos 1993).

#### **3.4.2. DETERMINACION DE PROTEINA SOLUBLE**

Se preparó una solución de albúmina sérica de bovino de 1mg/ml en agua destilada con la cual se realizó previamente la respectiva curva de calibración en la cual se utilizaron diferentes volúmenes de solución proteica (0.1; 0.2; 0.3; 0.4 y 0.5 ml), completándolas con agua destilada hasta que tengan volumen de 1ml. A esta solución se le agregaron 5ml de reactivo de Lowry (solución preparada de carbonato de sodio al 2 por ciento en NaOH 0.1N mezclada con 0.5 ml de solución de sulfato de cobre al 1 por ciento y con 0.5 ml de solución de tartrato sódico-potásico al 2 por ciento). Permitiendo la reacción de los grupos proteicos durante 10 minutos en oscuridad; adicionando después 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido en agua destilada en proporción 1:4 permitiendo la reducción del reactivo por los diferentes residuos proteicos durante 30 minutos en oscuridad, donde la solución tiende a un cambio de color de amarillo a azul. Todas las determinaciones fueron medidas a una absorbancia de 750 nm (Lowry *et al.*, 1951).



### 3.4.3. EVALUACIÓN DE PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES

La siguiente y última etapa de la metodología experimental es la determinación de las propiedades funcionales de los aislados proteicos en polvo. Las propiedades tecno-funcionales evaluadas fueron las siguientes:

- Capacidad de retención de agua (CRA):

De acuerdo con lo indicado por Sai- Ut *et al.* (2009); se preparó una suspensión proteica del aislado proteico en polvo al 1 por ciento (p/v), donde la solución fue agitada con un agitador magnético y el pH ajustado en un rango de 2 a 8. Después se trasladaron a tubos de centrifugación y luego de realizar esta operación se centrifugó a 4000 RPM por 15 minutos. Los tubos centrífuga se colocaron invertidos durante una hora en una estufa a 50 °C para eliminar el agua retenida, la cual se cae. Se pesó el precipitado y el sobrenadante fue retenido para determinar la solubilidad de la proteína. Calculándose la CRA como la diferencia entre el peso hidratado y el peso del original en un gramo de proteína de la siguiente manera:

$$\text{CRA (gramos de H}_2\text{O/gramo de proteína)} = \frac{\text{gramos de H}_2\text{O retenidos de la muestra}}{\text{peso de la muestra (gramos)}}$$

- Solubilidad:

Se utilizó la metodología realizada por Mercado (2012) con ciertas modificaciones. Se transfiere primero el sobrenadante obtenido en la determinación de CRA a una fiola de 100 ml y luego se enrasó con agua destilada. Posteriormente se determinó el contenido de proteínas solubles por el método espectrofotométrico de Lowry.

El porcentaje de solubilidad se determinó de la siguiente manera:

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{\text{Peso (gramos) de proteínas en 100 ml de solución} * 100}{\text{Peso (gramos) de proteínas en la muestra}}$$

Para determinar efectos del pH en la solubilidad, se ajustó los valores de pH a 2, 4, 6 y 8 adicionando gotas de HCl 0.1N y NaOH 0.1N hasta que se establezca el valor de pH.

- Capacidad de absorción de aceite (CAA):

Para determinar la CAA se siguió el método realizado por Hassan *et al.* (2010) con ciertas modificaciones:

Se mezcló 4 ml de aceite de maíz con 0.5g del aislado proteico seco en un tubo centrífuga de 10ml. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y seguidamente se centrifugó a 4000 RPM por 25 minutos, descartándose el sobrenadante. La diferencia entre el peso del sedimento obtenido y el peso seco inicial proporcionó la cantidad de aceite retenido, expresándose los resultados como gramos de aceite/ gramo de proteína.

$$CAA = \frac{\text{Aceite (gramos)}}{\text{Aislado proteico (gramos)}}$$

- Capacidad de formación de espuma (CFE):

Se determinó por el método descrito por Mercado (2012) en el cual se prepararon soluciones proteicas de 0.5; 0.75 y 1.0 por ciento ajustándose el pH de cada solución a 6, 7 y 8. Una vez realizada la dispersión se Homogenizó por 3 minutos en un equipo homogenizador a 10000 RPM. Se ajustó los valores de pH adicionando gotas de HCl 0.1N y NaOH 0.1N hasta que se establezca el valor de pH.

Después de medir el volumen total del batido, se calculó el porcentaje de volumen incrementado a los 30 segundos de la siguiente manera:

$$\% \text{ de vol. incrementado} = \frac{(\text{Vol. despues de batido} - \text{Vol. antes de batido}) * 100}{\text{Volumen antes de batido}}$$

- Estabilidad de la espuma (EES):

Se determinó empleando el método mencionado por Onsaard *et al.* (2010) realizándose el siguiente procedimiento:

Después de medir el volumen total del batido, se midió el volumen de la espuma en la probeta a un tiempo de 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90 y 120 minutos, determinándose en función del pH (6; 7 y 8) y de la concentración proteica (0.5; 0.75 y 1 por ciento).

Los resultados se calcularon aplicando la siguiente relación:

$$\% \text{ EES} = \frac{(\text{Volumen de espuma a un tiempo determinado}) * 100}{\text{Volumen de espuma a tiempo cero}}$$

- Capacidad de gelificación (CG):

Se determinó por el método desarrollado por Zhang *et al.* (2007) en el cual se prepararon soluciones proteicas de 5; 10; 15 y 20 por ciento (p/v).

Las soluciones se colocaron en tubos de ensayo y fueron calentadas a 90-95 °C en baño maría por 60 minutos, luego fueron enfriadas a 4 °C por 60 minutos.

Después del tiempo mencionado los tubos fueron agitados para determinar la estabilidad del gel. Los tubos conteniendo los geles estables fueron invertidos y dejados a temperatura ambiente por 30 minutos. Los resultados fueron reportados en términos de la menor concentración de muestra requerida para que el gel permanezca estable después de 30 minutos a temperatura ambiente.

- Capacidad de emulsión (CE) y Estabilidad de la emulsión (EE):

Se determinaron siguiendo el método descrito por Mercado (2012) mediante las siguientes operaciones:

Se mezcló 1 gramo de aislado proteico con 20 ml de agua, agitándose durante 15 minutos. Posteriormente se ajustó el pH de la solución proteica a 7 aforándose a 25 ml con agua destilada.

Se mezclaron los 25 ml de esta solución proteica con 25 ml de aceite de maíz en una licuadora por 3 minutos, centrifugándose después de este tiempo a 1300 rpm por 5 minutos. La CE se expresó en términos de porcentaje, como la altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido (50ml); esta capa está compuesta por los lípidos del aceite de maíz que son miscibles en agua destilada. Se midió el volumen de la capa emulsificada colocándolo en una probeta graduada.

La EE se determinó en términos de colapso de dicha emulsión, esto fue medido después de 2 horas de ser formada la emulsión. Se midió el volumen del remanente de capa emulsificada colocándolo en una probeta graduada con respecto al volumen inicial de la emulsión.

#### **3.4.4. DETERMINACION DEL COLOR**

Se determinó con un Colorímetro. El instrumento se calibró con una teja blanca estándar de Hunter ( $L^* = 92.43$ ,  $a^* = 0.86$ ,  $b^* = 0.16$ ). La escala de color utilizada fue CIE  $L^*a^*b^*$ . Donde los valores de  $L^*$  indican la claridad (negro  $L^* = 0$  y blanco  $L^* = 100$ ), los valores del  $a^*$  indican el rojo-verde (rojo  $a^* = 100$  y verde  $a^* = -100$ ), los valores del  $b^*$  indican el amarillo-azul (amarillo  $b^* = 100$  y azul  $b^* = -100$ ).

#### **3.5. METODOLOGÍA**

Para realizar la extracción de proteína se realizaron operaciones previas como:

### 3.5.1. ACONDICIONAMIENTO DE LOS GRANOS DESAMARGADOS

a. Secado:

Los granos desamargados se secaron en un secador de bandejas durante 18 horas a 65 °C hasta una humedad menor a 10 por ciento para que tengan un mayor tiempo de vida y facilitar la molienda.

b. Molienda:

Se molieron los granos secos en un molino manual de discos, posteriormente se determinó una granulometría de malla 20 (850um) con el objetivo de que la muestra pueda ser desengrasada adecuadamente en el Expeller, debido a que cuando se realizaron pruebas anteriores a granulometrías mayores parte de los granos molidos se obstruían y quemaban en el Expeller.

El desamargado se realizó adaptando el método desarrollado por Quispe (2015) mostrándose el proceso en la siguiente figura:

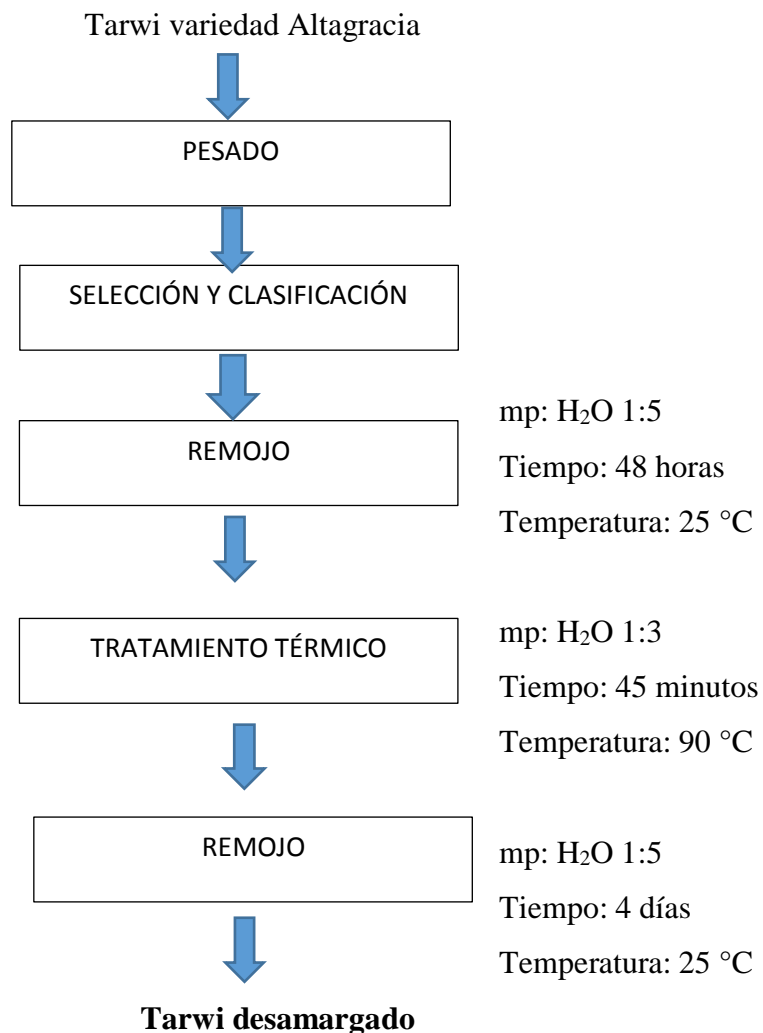


Figura 2: Proceso de obtención de tarwi desamargado

c. Desgrasado por Expeller:

Se extrajo el aceite utilizando un Expeller acondicionando la muestra a 8 por ciento de humedad con el objetivo de facilitar la extracción, debido a que cuando se realizaron pruebas con humedades menores los granos molidos y tamizados se quemaron.

d. Molienda:

La torta de tarwi sólida obtenida como subproducto de la operación anterior se molió utilizando un molino de martillos para disminuir el tamaño de partícula y facilitar el almacenamiento.

e. Tamizado:

La harina de torta de tarwi obtenida de la operación anterior se tamizó a una luz de malla 60 (250  $\mu\text{m}$ ) debido a que autores como Akaerue y Onwuka (2010) y Barac *et al.* (2010) afirman que un tamaño de partícula menor o igual a 300  $\mu\text{m}$  es lo suficientemente bajo para que se pueda realizar una extracción proteica adecuada y con los mayores rendimientos posibles.

f. Desgrasado por Solvente:

Se extrajo el aceite residual de la torta de tarwi obtenida utilizando un equipo Soxhlet y éter de petróleo en relación harina: solvente de 1:7 (gramos:mililitros) durante un tiempo de 8 horas.

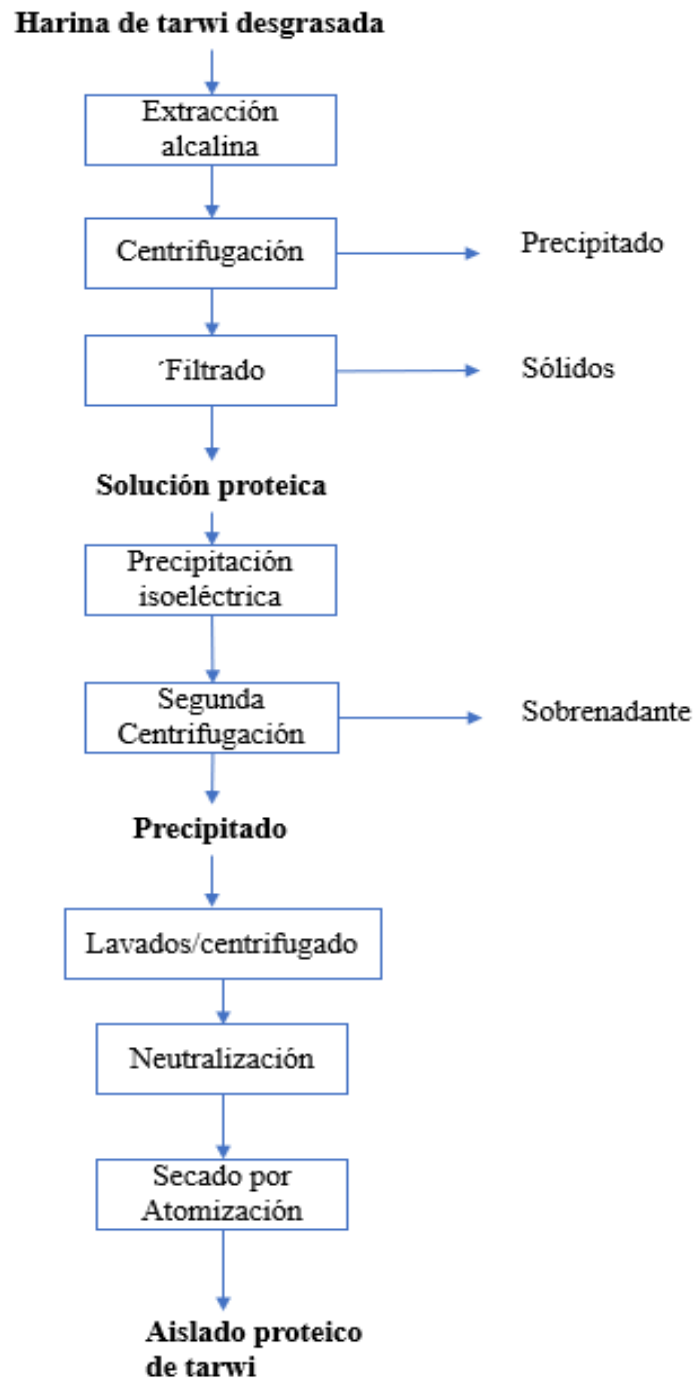
Con la harina de torta de tarwi desengrasada (% de grasa < 0.5 por ciento) se realizaron las siguientes operaciones, utilizándose el método de extracción alcalina y precipitación isoeléctrica recomendado por Jiang *et al.*, y Sanchez-Vioque *et al.*, citados por Mercado (2012) quienes utilizaron el método de “uno a la vez”, donde se evaluaron diferentes niveles de una variable manteniendo constante las otras, para tal efecto se utilizaron valores iniciales de pH: 9, relación harina desengrasada: solvente 1:20, temperatura: 25 °C y tiempo de extracción: 20 minutos recomendados por Hassan *et al.* (2010) y Mercado (2012).

### **3.5.2. EXTRACCIÓN PROTEICA**

Después de obtener la harina de torta de tarwi desengrasada (contenido graso menor a 0.5%) y tamizada a malla 60 se realizó la extracción proteica como se muestra en la Figura 3:

Se utilizó el método de extracción alcalina y precipitación isoeléctrica ampliamente utilizado por Mercado (2012), Schoeneberger *et al.* (2015), Barac *et al.* (2010); además se utilizó el método de “uno a la vez”, el cual fue utilizado por Sánchez Vioque *et al.* (1999) citado por

Mercado (2012) evaluando diferentes niveles de una variable y manteniendo constantes las otras. Para tal efecto se utilizaron valores iniciales de pH 9, temperatura 25 °C, relación harina desgrasada: solvente 1:20 y tiempo 20 minutos recomendados por Hassan *et al.* (2010) y Eltayeb *et al.* (2011).



**Figura 3: Flujo de operaciones para la obtención del aislado proteico de tarwi**

a. Extracción alcalina:

Se utilizó NaOH 1N y 3 gramos de harina desgrasada, cuyas variables a evaluar serán: harina desgrasada: solventes (1:15; 1:20; 1:25; 1:30; 1:35 y 1:40 peso en gramos: volumen en mililitros); pH (8.5; 9; 9.5; 10 y 10.5); temperatura (25; 40; 50 ;60 y 70 °C) y tiempo (20; 30; 40; 50; 60 y 70 minutos) para extraer la proteína con las diferentes variables.

b. Centrifugación:

En cada una de las etapas las partículas no solubles fueron eliminadas previa centrifugación a 4000 RPM por 20 minutos y a temperatura ambiente; donde el contenido de proteínas solubles fue determinado de acuerdo con el método espectrofotométrico de Lowry a 750 nm.

c. Purificación de la solución proteica:

Se realizaron algunas operaciones para poder obtener una solución con la mayor concentración de proteínas, eliminando fibras, grasas y carbohidratos solubles. Donde el sobrenadante se filtró a través de un papel filtro lento con ayuda de una bomba, eliminando la fracción sedimentada y recuperando el sobrenadante filtrado, el cual se dejó reposar por 2 horas y posteriormente volvió a ser filtrado utilizando una bomba y papel Whatman N °1 como la solución final que va a ser precipitada.

d. Precipitación proteica:

Las proteínas extraídas fueron precipitadas con HCl 1N a diferentes valores de pH (4.2; 4.4; 4.6; 4.8 y 5) recuperándose el precipitado por centrifugación a 4000 RPM durante 20 minutos y posteriormente lavado.

e. Lavado:

Se lavó el sólido obtenido en la operación anterior con dos lavados a temperatura ambiente; homogenizándose con una licuadora a mínima velocidad, el primer lavado fue con etanol al 20 por ciento (mezcla hidroalcohólica) con una relación coágulo proteico/mezcla hidroalcohólica (1/10), con la finalidad de disminuir el contenido de polifenoles (Golcalves *et al.*, citado por Mercado, 2012). Mientras el segundo lavado se realizó con agua destilada en una relación coágulo proteico/ agua destilada (1/10), con el objeto de reducir los contenidos de compuestos no deseables en el producto final tales como fibras solubles, azúcares reductores, sales y eliminar el resto de alcohol. Posteriormente se centrifugó a 4000

RPM durante 20 minutos, obteniéndose un precipitado más puro con respecto al contenido proteico.

f. Neutralización y secado:

El precipitado obtenido se ajustó a pH 7 para facilitar el proceso de atomización, después de realizarse este último proceso se obtiene el aislado proteico de torta de tarwi en forma de polvo.

### **3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL**

En esta investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), el cual es útil debido a que las unidades experimentales son muy homogéneas (Torta de una misma variedad y con la misma composición), por lo tanto solo los tratamientos pueden afectar los cambios en la variable respuesta. En la Figura 4 se presenta el diseño experimental donde los tratamientos para pH son los 5 valores mencionados en el flujograma anterior (8,5; 9; 9,5 ;10 y 10,5); para la relación materia prima: solvente serán los 6 mencionados (1:15; 1:20; 1:25; 1:30; 1:35 y 1:40 gramos: mililitros); para la temperatura de extracción son los 5 mencionados (25; 40; 50 ; 60 y 70°C); para el tiempo de extracción son los 6 mencionados (20; 30; 40; 50; 60 y 70 minutos) y para la precipitación isoeléctrica los 5 valores de pH mencionados (4.2; 4.4; 4.6; 4.8 y 5) siendo la variable respuesta la cantidad de proteína, la cual fue determinada a partir de las absorbancias determinadas por el método de Lowry. Además, todos los ensayos y determinaciones fueron realizados por triplicado (tres repeticiones).

La Figura 4 muestra 5 etapas en las cuales se realizaron los tratamientos:

- La primera etapa consistió en mantener fijos los parámetros Temperatura (25 °C), relación materia prima: solvente (1:20) y tiempo de extracción (30 minutos); variando únicamente el pH en valores de: 8.5; 9; 9.5; 10 y 10.5. Se eligió el de mayor proteína soluble.
- La segunda etapa se realizó después de tener el pH de mayor proteína soluble manteniéndose para las siguientes etapas. Para esta etapa los otros valores como temperatura (25 °C), tiempo de extracción (30 minutos) se mantienen constantes; variando únicamente la relación materia prima: solvente en valores de: 1:15; 1:20; 1:25; 1:30; 1:35 y 1:40. Se eligió el de mayor proteína soluble.



	Acondicionamiento	Evaluación de los parámetros de la Extracción Alcalina					Precipitación Isoeléctrica (P.I)	Secado por Atomización
		pH	Mp:S	T°C	Time (minutos)			
Granos de tarwi desamargados	Torta de tarwi molida y desengrasada	8.5 9 9.5 10 10.5	1:15 1:20 1:25 1:30 1:35 1:40	25 40 50 60 70	20 30 40 50 60 70	4.2 4.4 4.5 4.8 5	Aislado proteico	
Controles	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de humedad</li> <li>Determinación de grasa</li> <li>Tamaño de partícula</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de proteína soluble por el método de Lowry a 750 nm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de proteína soluble por el método de Lowry a 750 nm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de proteína soluble por el método de Lowry a 750 nm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinación de proteína soluble por el método de Lowry a 750 nm.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se elige el valor de P.I cuyo sobrenadante es de menor solubilidad, ésta ultima es medida mediante el método de Lowry.</li> </ul>		

Figura 4: Diseño Experimental de la Metodología de Investigación

- La tercera etapa se realizó después de tener la relación materia prima: solvente óptima donde se mantiene este valor para las siguientes etapas. En ésta etapa el tiempo de extracción (30 minutos) se mantiene constante; variando únicamente la temperatura en valores de: 25; 40; 50; 60 y 70 °C. Se eligió el de mayor proteína soluble.
- La cuarta etapa se realizó después de tener la temperatura a la cual se determina mayor proteína soluble, utilizando los valores óptimos previamente determinados y variando únicamente el tiempo de extracción en valores de 20; 30; 40; 50; 60 y 70 minutos.
- La quinta y última etapa se realizó después de obtener los 4 parámetros óptimos de extracción (pH, relación materia prima: solvente y temperatura) los cuales se mantuvieron constantes variando únicamente los valores de punto isoeléctrico en: 4.2; 4.4; 4.6; 4.8 y 5, determinándose el punto óptimo el que tiene menor solubilidad proteica por el método de Lowry, debido a que en ese valor de pH la proteína en su mayoría precipita quedando solubles cantidades mínimas.

### **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Para la maximización de la extracción de proteínas de *Lupinus mutabilis* a partir de la torta desgrasada se realizaron todas las determinaciones por triplicado y los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANVA) para probar si las medias de los tratamientos son iguales o al menos una es diferente. Además, la significación de las diferencias entre las medias fue determinada por el test de rangos múltiples de TUKEY, siempre y cuando la prueba de ANVA resulte significativa. El tratamiento de los datos experimentales obtenidos se complementó utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS ® CENTURION XV. Se utilizó un nivel de significancia de  $p < 0.05$

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. MATERIA PRIMA

#### 4.1.1. ANÁLISIS PROXIMAL DE LOS GRANOS DE TARWI SIN DESAMARGAR

La variedad de tarwi de la especie *Lupinus mutabilis* utilizada en este trabajo de investigación fue Altagracia, la cual proviene de La Libertad y fue cultivada y evaluada previamente junto con otros 30 ecotipos por el programa de leguminosas de la Universidad Nacional Agraria La Molina en Ancash y se realizaron los análisis proximales en el INDDA, resaltando esta variedad con el mayor contenido de proteína (44.5 por ciento de proteína) y mejor comportamiento agronómico. Existen valores similares en el contenido proteico con respecto a las semillas de tarwi utilizadas por Ortega *et al.* (2010) las cuales fueron cultivadas en los Andes de Colombia, obteniendo 44.86 por ciento de proteínas; sin embargo el autor menciona que de acuerdo a la literatura el tarwi puede contener hasta 51 por ciento de proteína. Autores como Sosa (2000) que trabajaron previamente con tarwi, usaron semillas cultivadas en la Sierra Peruana con 42.8 por ciento de proteína; un valor mucho más bajo que el utilizado en esta investigación. La principal razón de esta diferencia es que los granos son de distintos ecotipos, sin embargo factores como el tipo y porcentaje de nutrientes de los suelos en los que se cultivaron es otra gran influencia; lo mencionado coincide con Suca (2016) quien afirma que las propiedades del suelo como la textura, porosidad, composición mineralógica y materia orgánica son las que más influyen en el desarrollo de las semillas y raíces de las plantas debido a que también influyen en la disponibilidad tanto de agua como de nutrientes hacia la planta.

Con respecto al contenido proteico de los granos de tarwi. Sosa (2000) afirma que el *Lupinus mutabilis* tiene un contenido de proteína de 43.07 por ciento (base seca), siendo la proteína más elevada respecto a otras variedades como *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius* y *Lupinus luteus* que tienen 16.7, 31.1 y 41.8 por ciento respectivamente afirmando que el contenido de proteína depende de la especie de lupino. En esta investigación los granos utilizados contienen un contenido proteico mayor que el mencionado por los autores siendo 44.5 por ciento.

El análisis de la composición química proximal de los granos con los que se trabajó en esta investigación se muestra en el cuadro 7.

**Cuadro 7: Análisis químico proximal de granos de tarwi sin desamargar y harina de torta de tarwi desgrasada**

<b>COMPONENTE (% EN BASE SECA)</b>	<b>GRANOS DE TARWI</b>	<b>HARINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA</b>
Ceniza	3.21	2.35
Grasa	17.29	0.33
Proteína (factor 6.25)	44.5	69.94
Carbohidrato	30.16	18.98

#### **4.1.2. OBTENCIÓN DE HARINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA**

Durante el procedimiento para la obtención de la harina desgrasada existió una pérdida de peso de 25.2 por ciento. La pérdida de peso se debió a la pérdida de aceite y de humedad además que durante el tamizado hubo pérdidas en los diferentes trasvases.

En esta investigación durante la etapa de desgrasado por Soxhlet (proceso posterior al desgrasado por Expeller) se utilizó como solvente éter de petróleo para desgrasar la torta molida y tamizada de torta de tarwi; autores como Ogundele y Oshodi (2010), Arango *et al.* (2012) y Mercado (2012) quienes obtuvieron un aislado proteico de semillas de melón, chachafruto y sachá inchi respectivamente mencionan que el éter de petróleo no ocasiona ningún tipo de daño al aislado proteico obtenido.

Los resultados muestran que la torta de tarwi es una muy buena fuente de proteínas, lo cual justifica el proceso de extracción de estas. El tiempo total de desgrasado durante la etapa con solvente (éter de petróleo) fue de 8 horas obteniéndose finalmente un porcentaje de grasa de 0.33, un valor muy óptimo y dentro del rango reportado para otras harinas desgrasadas para el fin de una extracción proteica adecuada debido a que según Fennema (2000) cuando el contenido de grasa de harinas listas para extraer proteínas se encuentra en concentraciones superiores a 0.5 por ciento perjudican notablemente las propiedades tecno-funcionales

especialmente la capacidad de formación de espuma de los aislados proteicos ya que se forman emulsiones inestables. Además, Goncalves *et al.*, citado por Cárdenas (2016) reportan que los lípidos presentes en los aislados proteicos pueden ocasionar olores rancios, así como sabores amargos o astringentes; así mismo pueden incrementar la retención de los compuestos resultantes de la propia oxidación lipídica, reduciendo el valor nutricional de las proteínas.

Con respecto al contenido proteico, la harina desgrasada de torta de tarwi contiene 66.14 por ciento en base húmeda y 69.94 por ciento en base seca. Este contenido proteico es mayor en comparación con otras harinas desgrasadas reportadas por otros autores en base seca como Mercado (2012) que trabajó con harina desgrasada de Sacha Inchi (67.23% de proteínas), Onsaard *et al.* (2010) que trabajó con harina desgrasada de ajonjolí (42.07% de proteínas).

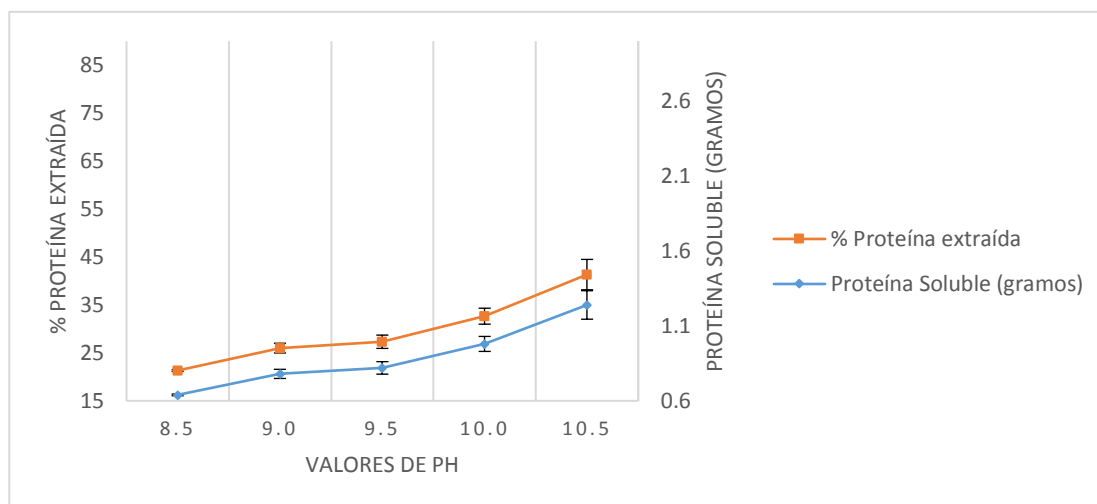
## **4.2. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS DE EXTRACCION DE LA PROTEINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA**

### **4.2.1. EXTRACCIÓN PROTEICA**

Para determinar el cálculo del contenido de proteínas solubles se consideró un contenido inicial de 70 por ciento de proteínas de la harina de torta de tarwi desgrasada. Todos los ensayos se trabajaron con 3 gramos de harina de torta de tarwi desgrasada.

a. Efecto el pH: Se realizaron pruebas con pH alcalinos. Autores como Calisaya (2011), Laurente (2016) y Mercado (2012) afirman que los pH alcalinos producen un máximo contenido de proteína soluble y por lo tanto el rendimiento de extracción es mucho mayor que a pH ácido, debido a que la alta concentración alcalina ayuda a aumentar la carga de la superficie de las moléculas llevando a un aumento de solubilidad en agua. Sin embargo, se trabajó con pH menores a 11 debido a que autores como Akaerue *et al.* (2010) sostienen partir de pH iguales o mayores que 11 se provoca una racemización de aminoácidos como lisina y cisteína y formación de puentes covalentes intra o intermoleculares, disminuyendo la digestibilidad de la proteína y su valor nutricional.

La mayor recuperación de proteína se obtuvo con un pH de 10.5 y correspondió a 1.24 gramos de proteína (41.33% de proteína o 59.04% de solubilización). Según el análisis estadístico ANVA los incrementos de recuperación de proteínas fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). Donde el porcentaje de proteínas extraídas paso de 32.66 a 41.33 por ciento.

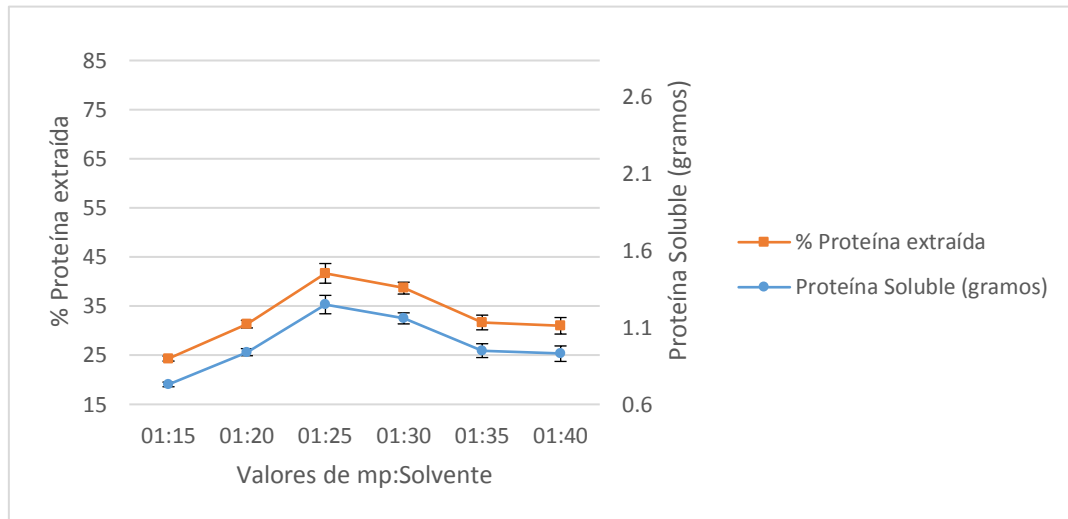


Valores constantes: harina desgrasada: solvente 1:20; T: 25°C; tiempo 20 min.

**Figura 5: Efecto del pH en la extracción de proteína de torta de tarwi**

b. Efecto de la relación harina desgrasada/solvente: La mayor recuperación de proteína se obtuvo con la relación 1/25 y correspondió a 1.25 gramos de proteína (41.67 % de proteína o 59.52% de solubilización de las proteínas). Según el análisis estadístico ANVA se observa que los incrementos de recuperación de las proteínas fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). El porcentaje de proteínas extraídas paso del 31.2 a 41.67 por ciento al aumentar la relación de harina desgrasada/solvente de 1/20 a 1/25 sin embargo al aumentar la relación de 1/25 a 1/30 el porcentaje de proteínas extraídas disminuyó de 41.67 a 38.67 por ciento a pesar de la mayor presencia de solvente. Autores como Kanu *et al.*, citado por Mercado 2012 en sus reportes de extracción de proteínas utilizando una relación 1/10 (p/v) para las semillas de sésamo obtuvieron casi 80 por ciento de recuperación de proteínas, lo cual se debe al mayor porcentaje de aminoácidos lipofílicos como triptófano e isoleucina en la composición de la proteína de tarwi. Relaciones harina desgrasada/solvente de 1/20 a 1/30 que dieron máxima extracción proteica fueron obtenidas por autores como Onsaard *et al.* (2010), Klupsaite y Juodeikiene (2015), Mercado (2012) quienes utilizaron como materia prima harinas de amaranto, soya y sacha inchi respectivamente. Lo cual según Klupsaite y

Juodeikiene (2015) se debe principalmente a que al igual que el tarwi, estas materias primas poseen globulinas y albúminas como la mayor parte de sus proteínas, siendo muy solubles en agua y por lo tanto requiriendo mayores cantidades de solvente.

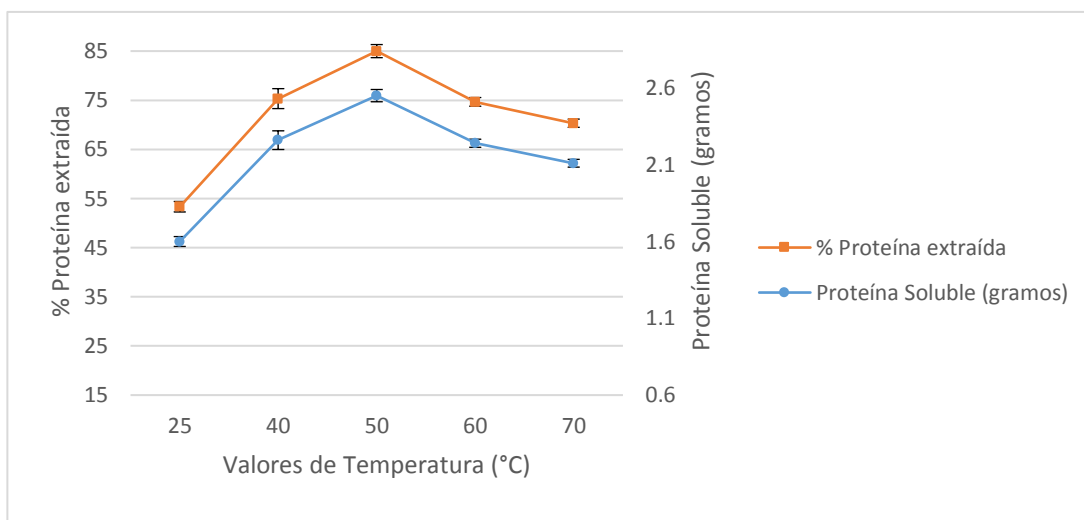


Valores constantes: pH: 10.5; T: 25°C; tiempo 20 min

**Figura 6: Efecto de la relación harina desgrasada/solvente en la extracción de proteína de torta de tarwi**

c. Efecto de la temperatura: La mayor recuperación de proteína se obtuvo con una temperatura de 50 °C y correspondió a 2.55 gramos de proteína (85% de proteína extraída). Según el análisis estadístico ANVA se observa que los incrementos de recuperación de las proteínas fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). El porcentaje de proteínas extraídas pasó del 75.33 a 85 por ciento al aumentar la temperatura de la solución de 40 a 50 °C con diferencias significativas; manifestándose una disminución de proteínas extraídas al seguir aumentando la temperatura de la solución de 50 a 60 °C. Esta temperatura de máxima extracción de proteínas coincide con Akaerue y Onwuka (2010); Mercado (2012) y Jayasena *et al.* (2010) para la obtención de aislados proteicos de frijol mungo, sachá inchi y lupinos australianos, respectivamente. Además a pH y fuerza iónica constante, un incremento moderado de la temperatura hasta alrededor de 50 °C mejora la solubilidad de las proteínas; las temperaturas más altas conllevan a su desnaturalización y a la exposición de residuos hidrófobos inicialmente encerrados en el interior de la estructura (Jeantet *et al.* 2010). Fue principalmente por este motivo que se descartó la temperatura de 60 °C con respecto a la extracción a 50 °C. Si bien el porcentaje de proteína extraída es mayor al porcentaje de proteína de la muestra (70%), esto se debe a que la albumina sérica (proteína animal) usada en los análisis es una proteína muy diferente a la del tarwi (principalmente compuesta por

globulinas); sin embargo los análisis realizados han sido sometidos a las mismas condiciones variando únicamente el parámetro de interés.

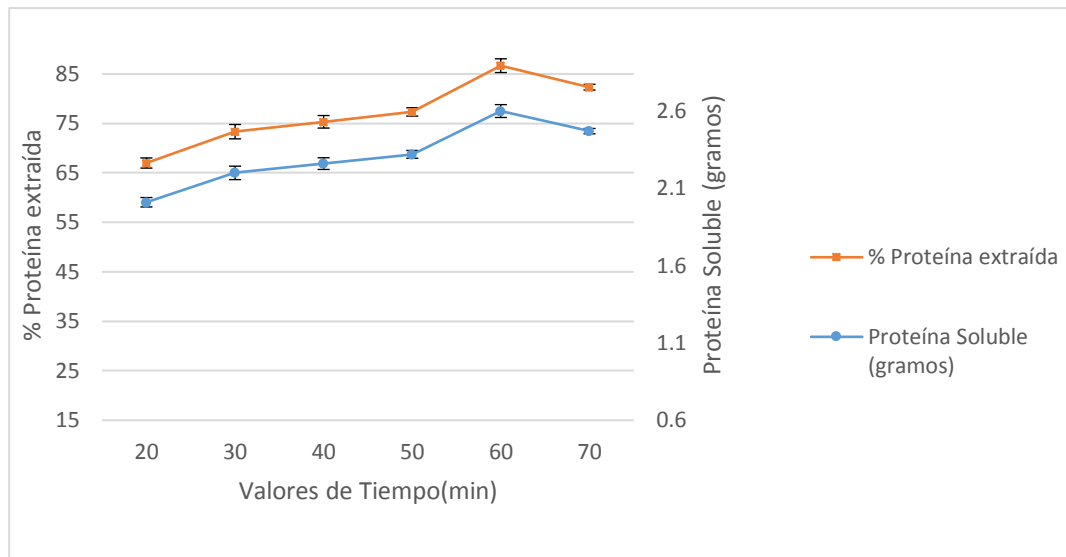


Valores constantes: harina desgrasada: solvente 1:25; pH 10.5; tiempo 20 min

**Figura 7: Efecto de la temperatura en la extracción de proteína de torta de tarwi**

d. Efecto del tiempo: El mayor rendimiento en la extracción de proteínas se dió a un tiempo de 60 minutos y correspondió a 2.6 gramos de proteína (86.67% de proteína extraída). Según el análisis estadístico ANVA se observó que los incrementos de recuperación de las proteínas fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). El porcentaje de proteínas extraídas pasó de 77.33 por ciento de proteína extraída a 86.67 por ciento al aumentar el tiempo de 50 a 60 minutos; manifestándose posteriormente una disminución de las mismas. Este tiempo de máxima extracción coincide con Jayasena *et al.* (2010), Barac *et al.* (2010), Akaerue y Onwuka (2010) y Eltayeb *et al.* (2011) quienes trabajaron con lupinos australianos, arvejas, frejoles mungos y maní respectivamente. Si bien el porcentaje de proteína extraída es mayor al porcentaje de proteína de la muestra (70%), esto se debe a que la albumina sérica (proteína animal) usada en los análisis es una proteína muy diferente a la del tarwi (principalmente compuesta por globulinas); sin embargo los análisis realizados han sido sometidos a las mismas condiciones variando únicamente el parámetro de interés.





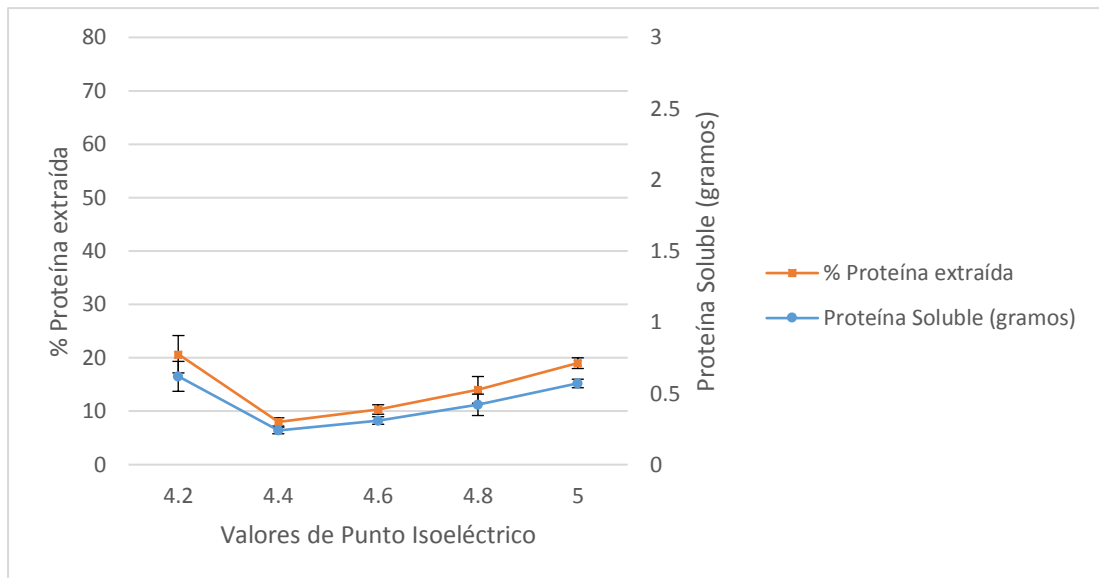
Valores constantes: harina desgrasada:solvente 1:25; pH 10.5; T: 50 °C.

**Figura 8: Efecto del tiempo en la extracción de proteína de torta de tarwi**

Los parámetros de máxima extracción de las proteínas de tarwi fueron: pH (10.5); harina desgrasada solvente (1:25); temperatura (50 °C) y tiempo (60 minutos). Con estos valores se procedió a realizar la extracción alcalina para posteriormente determinar su Punto Isoeléctrico.

#### 4.2.2. PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA

Las proteínas de tarwi mostraron un pI a un pH de 4.4 donde precipitó un 88.73 por ciento de las proteínas y un pH de 4.6 donde precipitó un 85.24 por ciento de las proteínas. Según el análisis estadístico ANVA se observa (Anexo 26) que los incrementos de recuperación de las proteínas fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey indica que entre pI 4.4 y 4.6 no hay diferencias significativas. Además, Jayasena *et al.* (2010) en sus investigaciones con lupino de variedad australiana concluyó que los aislados proteicos elaborados con precipitación a un rango de pH de 4.4 a 5.0 no tienen diferencias significativas en cuanto a propiedades tecnológicas como capacidad emulsificante y capacidad de formación de espuma. Por lo tanto, se utilizó como mejor parámetro el pI de 4.6 debido a que de esta manera se ahorra en reactivos como HCl para acidificar el extracto proteico en comparación a bajar de manera constante el pH hasta 4.4.



**Figura 9: Determinación del punto isoelectrico (pI) de la proteína de torta de tarwi**

Porras *et al.* (2013) afirman que las globulinas representan la mayor fracción proteica que posee la proteína de tarwi. Además Ghaly y Alkoaik (2010) afirman que las globulinas precipitan a un pH entre 4.4 y 6.8. En la investigación las mayores precipitaciones proteicas se encontraron con los valores de pI de 4.4 y 4.6 lo cual concuerda con lo mencionado por los autores.

Chambal *et al.* (2012) y Jayasena *et al.* (2010) afirman que el punto isoelectrico más utilizado para extraer proteínas de leguminosas es 4.5. Por este motivo Jayasena *et al.* (2010) utilizó el pH de 4.5 como tratamiento control para evaluar las propiedades tecno-funcionales de otros aislados con diferente pH.

Hassan *et al.* (2010) menciona que durante la precipitación isoelectrica de los aislados ocurre la polimerización más profunda dando como resultado la insolubilidad de las proteínas. Según Mune *et al.* (2011) la recuperación incompleta de la proteína puede ser en parte debido a la pérdida de proteínas solubles durante la precipitación isoelectrica o la retención de proteínas en los residuos debido a la formación de complejos con otros componentes de la semilla. Este fue uno de los motivos por los que se realizó centrifugación y procesos de purificación que principalmente ayudaron a eliminar sustancias mucilaginosas y carbohidratos complejos que contenía la semilla de Tarwi.

Paredes *et al.*, citados por Chee y Ayob (2013) afirman que los procesos aplicados para la obtención de aislados proteicos tienen en común el uso de medios alcalinos para la extracción

proteica (pH de 8 a 11) y un medio ácido (pH de 4 a 6) para su precipitación. En la presente investigación los parámetros de pH de extracción y pH de precipitación resultaron de acuerdo con lo mencionado por los autores siendo valores de 10.5 y 4.6 respectivamente.

#### **4.3. LAVADO DEL PRECIPITADO PROTEICO**

Se lavó el sólido obtenido después de centrifugar la solución con dos lavados a temperatura ambiente utilizando una licuadora a mínima velocidad para poder homogenizar, donde se utilizó agua y etanol (solución hidroalcohólica al 20%). Según Castel (2010) el uso de las mezclas hidroalcohólicas permite una adecuada extracción de compuestos tales como lípidos polares y sus productos de oxidación, fenoles, isoflavonas, esteroides y azúcares. Según autores como Kozłowska *et al.*, citado por Mercado (2012), Nadal *et al.* (2011), Akaure y Onwuka (2010) estas operaciones de lavados son beneficiosas ya que eliminan sustancias que perjudican la extracción de la proteína, pero también generan una pérdida de material proteico ya sea porque algunas proteínas son solubles en estas condiciones y se eliminan en los sobrenadantes o porque se pierden en los trasvases.

#### **4.4. SECADO POR ATOMIZACION**

Durante esta etapa la solución proteica de tarwi fue transformada en polvo, ocupó menos espacio, y tuvo mayor tiempo de vida debido a la baja actividad de agua. Por lo tanto, el proceso de atomizado resultó beneficioso. López *et al.*, citado por Mercado (2012) afirma que las soluciones atomizadas ocupan menos espacio, son fáciles de transportar y de fácil agregación a los sistemas alimentarios.

#### **4.5. COMPOSICION DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI**

El contenido de proteínas en base seca del aislado proteico de tarwi es similar a los reportados por Mercado (2012), Akaerue *et al.* (2010) y Eltayeb *et al.* (2011) para la proteína de sachá inchi, frejol mungo y maní obteniendo valores de 95.1, 89.56 y 93.84 por ciento, respectivamente.

En el análisis químico proximal del aislado proteico de tarwi (cuadro 8) se puede evidenciar un alto contenido de proteínas y una cantidad mínima del resto de componentes.

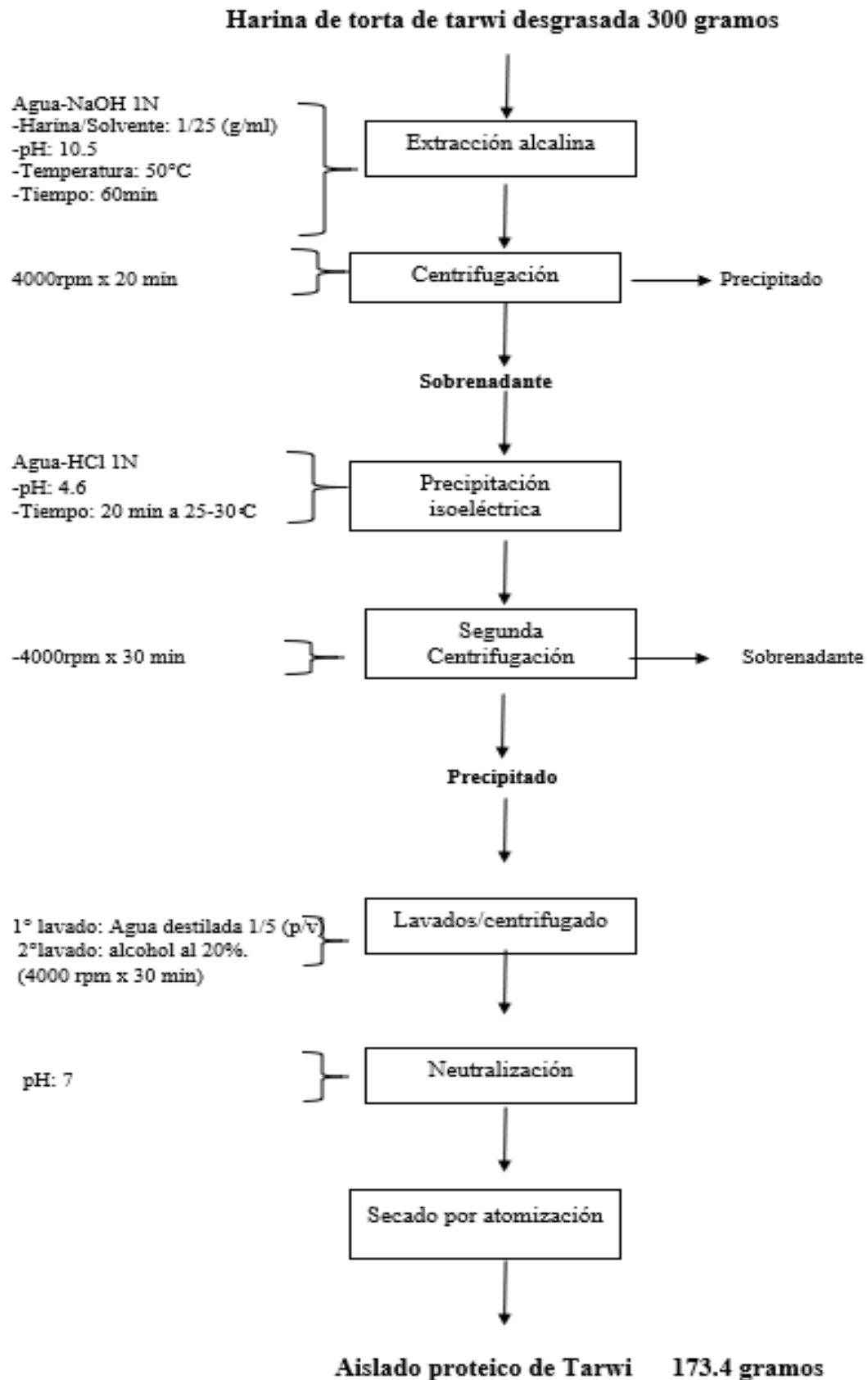
**Cuadro 8: Composición química proximal del aislado proteico de tarwi**

<b>COMPONENTE (% EN BASE SECA)</b>	<b> AISLADO PROTEICO DE TARWI</b>
Ceniza	2.51
Grasa	0.22
Fibra	0.14
Proteína	91.79
Carbohidrato	5.34

El contenido de proteínas en base seca del aislado proteico de tarwi es similar a los reportados por Mercado (2012), Akaerue *et al.* (2010) y Eltayeb *et al.* (2011) para la proteína de sachá inchi, frejol mungo y maní obteniendo valores de 95.1, 89.56 y 93.84 por ciento, respectivamente.

Klupsaite y Juodeikiene (2015) afirman que los rendimientos en la extracción proteica y posteriormente en el contenido proteico del aislado obtenido son influenciados por el tipo de proteína que contienen las materias primas; en el caso de las leguminosas como el tarwi, las principales proteínas encontradas son globulinas y albúminas, representando las globulinas el 70 por ciento de las proteínas del tarwi. Mientras que Delgado y Albarracín (2012) mencionan que a diferencia de otras leguminosas como *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus* y *Lupinus mutabilis* (tarwi o lupino) donde las fracciones mayoritarias han sido las albuminas y las globulinas, la harina de chachafruto usada para extracción proteica presentó un mayor contenido de glutelinas y albúminas además de ser deficiente en aminoácidos azufrados como la metionina y el triptófano. Lo mencionado por los autores lleva a concluir que estas matrices alimentarias al tener comportamiento, tipos y contenidos proteicos diferentes tienen diferentes parámetros de extracción y eso conlleva a las diferencias en el contenido proteico del aislado obtenido.

En la Figura 10 se puede observar los parámetros finales de la extracción y precipitación utilizados para la obtención del aislado proteico de tarwi:



**Figura 10: Parámetros finales con los cuales se obtiene el aislado proteico de torta de tarwi**

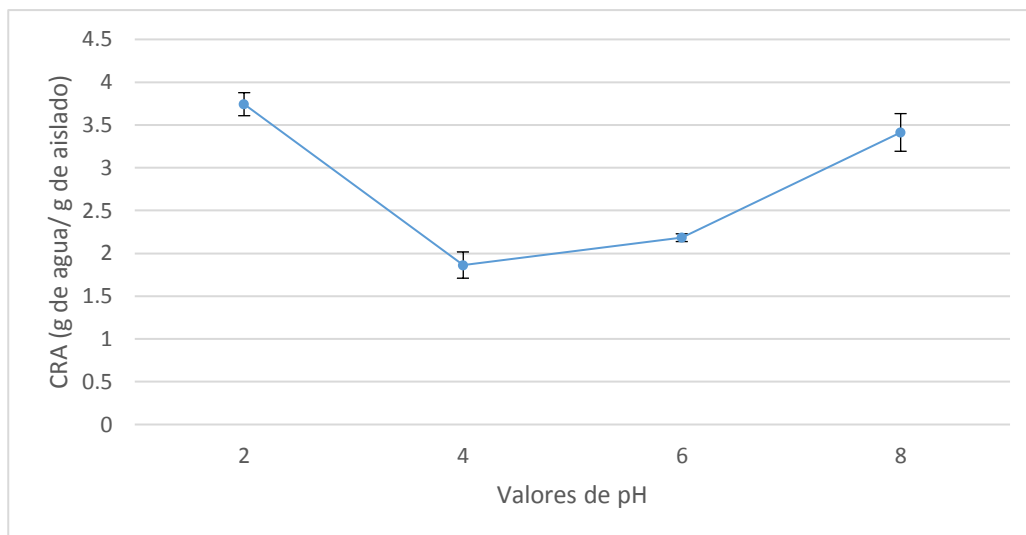
Nagmani y Prakash citado por Mercado (2012) mencionan que cuando los aislados proteicos están en presencia de otros constituyentes como carbohidratos, fibras, filatos o grasas, su solubilidad y las otras propiedades tecno-funcionales cambian. En esta investigación gracias a los lavados, centrifugados y filtrados se eliminaron la mayoría de los componentes no proteicos como fibras, carbohidratos y grasas obteniendo un aislado proteico con alto contenido de proteína.

Las variables determinadas y utilizadas en esta investigación para la obtención de aislado proteico de torta de tarwi (atomizado) fue de 57.8 por ciento con respecto a la harina desgrasada de torta de tarwi. Es decir que de 100 gramos de torta de tarwi se obtienen 57.8 gramos de aislado proteico de tarwi.

#### **4.6. PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DEL AISLADO PROTEICO DE TORTA DE TARWI**

##### **4.6.1. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)**

Se trabajó con 4 diferentes valores de pH (2; 4; 6 y 8) cada uno con tres repeticiones. El aislado proteico de torta de tarwi obtuvo un valor intermedio con relación a otras proteínas vegetales, alcanzando su máximo valor a un pH de 2 con un valor de 3.74 gramos de agua/gramo de aislado y para el valor de pH 4 (el cual es cercano al punto isoeléctrico de 4.5) un valor mínimo de 1.86 gramos de agua/gramo de aislado. Bouchenak y Lamri (2013) afirman que la CRA tiene relación directa con el contenido de aminoácidos polares, lo cual explica el por qué otros aislados proteicos como los de sachu inchi analizado por Mercado (2012) tienen menores contenidos de CRA (1.42 gramos de agua/ gramo de aislado) debido a que esta materia prima tiene mayor cantidad de aminoácidos apolares con respecto al lupino. Esto también es corroborado por Santacruz *et al.* (2012) quien afirma que la CRA aumenta por la capacidad para formar puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua y de los grupos polares del polipéptido, es decir si se dañan los enlaces de hidrógenos se traduce en una reducción en la CRA por parte de la proteína.



**Figura 11: Determinación de la CRA del aislado proteico de torta de tarwi**

Según el ANVA los resultados obtenidos a distintos valores de pH para el aislado proteico de tarwi tienen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Además, la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey indica que la mejor CRA resultó a pH 2 (3.74g de agua/g de aislado), seguido del valor a pH 8 (3.41g de agua/g de aislado) y teniendo como CRA más baja a pH 4 (1.86g de agua/g de aislado). La CRA de varios aislados proteicos de fuentes vegetales (Anexo 31), están alrededor de los resultados obtenidos para el aislado proteico de tarwi.

Asgar *et al.* (2010) menciona que las proteínas presentan la menor CRA en su punto isoeléctrico, ya que en este valor de pH predominan las interacciones proteína-proteína y además por encima o por debajo del pI la carga neta del aislado proteico se modifica y puede hincharse y retener más agua. Esto concuerda con los resultados obtenidos debido a que a pH 4, un valor muy cercano al punto isoeléctrico (4.5), se obtuvieron los menores valores de CRA y a valores alejados como pH de 2 y 8 se obtuvieron los mayores valores.

Glencross *et al.* (2010) afirman que la CRA es mayor a valores alejados del punto isoeléctrico debido a que se causan cambios conformacionales y estructurales debido a un aumento en las fuerzas de repulsión. El aumentar ligeramente la temperatura al extraer la proteína es conveniente para elevar la CRA, debido a que cuando la proteína se calienta los enlaces que mantienen sus estructuras secundarias y terciarias se debilitan; lo cual provoca que la mayoría de las moléculas de la proteína comiencen a desplegarse, lo que a menudo provoca un ligero aumento en la cantidad de agua retenida para interactuar con los grupos cargados, permitiendo interacciones extensas de ion-agua (Adawy citado por Akaerue y

Onwuka, 2010). Lo mencionado anteriormente puede ser la razón por la cual el aislado proteico de tarwi extraído a temperatura de 50 °C tuvo mayor CRA a un mismo pH que otros aislados que fueron obtenidos a temperatura ambiente como el de maní obtenido por Eltayeb *et al.* (2011) (CRA a pH 2 de 2.20 g de agua /g de proteína) sin embargo según Akaerue y Onwuka (2010) otros autores tuvieron mayores valores de CRA como 5.00 g/g para aislados proteicos de semillas secas.

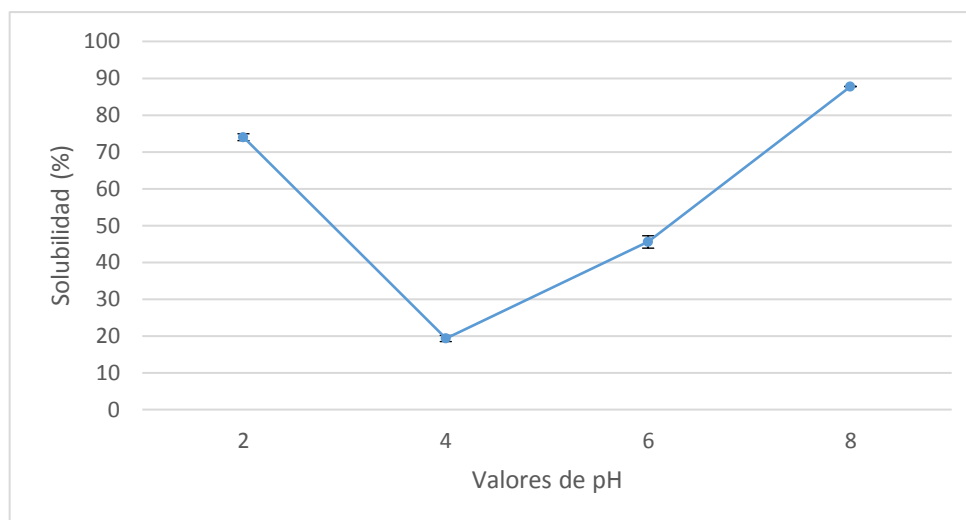
Martínez *et al.* (2011) quien determinó las propiedades tecno-funcionales de semillas de maracuyá obtuvo valores de CRA de 2.7 g de agua/ g de proteína afirmando también que se encuentra dentro del rango de CRA deseable para un aislado proteico comercial (valor de CRA mayor a 1.9 g de agua/g de proteína). En todos los tratamientos de pH con excepción del valor de pH 4 (CRA 1.86 g de agua/g de proteína) se obtuvieron valores de CRA mayores a esta cantidad, por lo tanto el aislado proteico de tarwi puede ser incorporado comercialmente para alimentos que requieran esta propiedad tecno-funcional como los productos cárnicos.

Hassan *et al.* (2010) afirma que los factores que influyen en la CRA de los aislados proteicos son el pH y la temperatura, debido a que en aislados proteicos como el del trigo la CRA aumenta al incrementar el valor de pH y temperaturas. Este comportamiento se puede notar ya que en el aislado proteico de tarwi al aumentar los valores de pH de 4 a 6 y a 8 hubo aumentos de CRA. Con respecto a la temperatura, en esta investigación la CRA se evaluó a temperatura ambiente (25 °C).

#### **4.6.2. SOLUBILIDAD (SOL)**

De acuerdo con el ANVA, la solución obtenida para el aislado proteico de tarwi los resultados obtenidos en valores de pH de 2; 4; 6 y 8 tienen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) indicando una solubilidad mayor a pH 8 obteniendo una media de 87.74 por ciento, además la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey indica que la mejor solubilidad fue a pH 8, seguida de la determinada a pH 2, siendo la solubilidad más baja la determinada a pH 4 (media de 19.31%).





**Figura 12: Perfil de solubilidad de la proteína de torta de tarwi**

En la Figura 12 se puede observar la curva de solubilidad en forma de V, teniendo como valor más bajo de solubilidad en el valor de pH 4 y valor más alto a pH 8 en medio acuoso teniendo un comportamiento similar al observado para proteínas de otras fuentes, siendo el valor de solubilidad mayor al reportado por Deng *et al.* (2011) para aislado proteico de soya 72.1 por ciento de solubilidad a pH de 8. Sin embargo, autores como Ju *et al.*, citado por Mercado (2012) obtuvo 99.36 por ciento de solubilidad a pH de 11 para proteína de harina de arroz desengrasada y Ogundele (2010) reportaron además un valor de solubilidad máxima para el aislado proteico de la semilla de melón de 96.33 por ciento también a pH de 11. En esta investigación no se determinó la solubilidad a valores más altos de pH como 9; 10; 11 y 12 debido a que las matrices alimentarias en las que se incorporan los aislados proteicos no pueden llegar a valores de pH demasiado alcalinos, por el contrario, son de naturaleza ácida o ligeramente alcalina.

La determinación de la solubilidad de las proteínas de torta de tarwi es de suma importancia ya que esta propiedad determina su aplicación en sistemas alimentarios. Mizubuti *et al.*, citado por Molina *et al.* (2013) afirman que la solubilidad proteica es útil en productos alimenticios donde se requieren propiedades como gelificación, emulsificación y formación de espuma en donde la proteína se encontrará en solución. Castel (2010) corrobora lo mencionado anteriormente, afirmando que la solubilidad es una propiedad de suma importancia que gobierna el comportamiento funcional de las proteínas y su potencial aplicación en alimentos procesados, dependiendo del estado fisicoquímico de las moléculas que puede ser alterado por calentamiento, procesamiento, secado y condiciones de almacenamiento.

Basha y Pancholy citado por Mercado (2012) reportan que los valores de pH por encima y por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas tienen una carga neta, la repulsión electrostática y la hidratación iónica promueven la solubilización de las proteínas. Para la mayoría de las proteínas la solubilidad mínima se produce en su punto isoeléctrico, donde la repulsión electrostática y la hidratación iónica son mínimas teniendo la interacción hidrofóbica en un contenido máximo. Este comportamiento también fue manifestado experimentalmente por la proteína de tarwi, ya que tuvo solubilidad mínima a pH 4, un valor muy cercano al punto isoeléctrico de su proteína (4.5).

Akaerue y Onwuka (2010) mencionan que el perfil de solubilidad de una proteína es dependiente del pH y también del tratamiento térmico debido a que en sus pruebas experimentales cuando la proteína estaba sometida a mayores tiempos de ebullición la solubilidad bajaba considerablemente (SOL de 95 a 55%) en comparación a cuando la proteína no estuvo sometida a tratamiento térmico. Autores como Zare (2014) también afirman que la solubilidad es afectada por las condiciones aplicadas en el procesamiento, como calentamiento, uso de solventes, pH y tamaño de partícula. En la presente investigación no se sometió al aislado proteico a temperaturas altas, se trabajó a temperatura ambiente modificando únicamente los valores de pH; además en esta investigación se utilizó un pH de extracción de 10.5 y una temperatura de 50 °C, según los autores estos procedimientos pudieron haber interferido con los resultados de solubilidad del aislado proteico de tarwi.

#### **4.6.3. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA)**

La CAA del aislado proteico de torta de tarwi resultó 1.76 gramos de aceite/ gramo de aislado proteico (El cálculo de la CAA se muestra en el Anexo 30). Aguilera (2010) y Eltayeb *et al.* (2011) mencionan que los aislado proteicos que tienen mayor CAA tendrán mayor número de cadenas laterales no polares (grupos hidrófobos). Además, Elizalde *et al.*, citado por Mercado (2012) reportan que los valores de CAA de diferentes marcas comerciales de aislados proteicos de soya van desde 1.00 hasta 1.95 g de aceite/ g de aislado. El valor de CAA obtenido para el aislado proteico de torta de tarwi se encuentra dentro del rango reportado por estos autores por lo tanto, su incorporación puede ser útil para la aplicación de galletas o productos cárnicos.

Navarro *et al.* (2014), quien determinó la capacidad de absorción de aceite de aislados proteicos de la leguminosa llamada guandul o frijol de palo (*Cajanus cajan*), afirma que este tiene 1.68 g de aceite/g de aislado de CAA afirmando que este valor es una alta absorción de aceite y que posibilita el uso de estos aislados proteicos en productos de panadería, cárnicos, aderezos para ensaladas, productos lácteos y alimentos infantiles. En esta investigación se obtuvo un valor de 1.76 g de aceite/ g de aislado, un valor ligeramente mayor al mencionado por anteriormente por los autores, por lo tanto el aislado proteico de torta de tarwi también puede ser incorporado en estas matrices alimenticias. Goncalves *et al.*, citado por Martínez *et al.* (2011) afirma que la CAA es un parámetro positivo, ya que la grasa absorbida protege frente a la desnaturalización térmica, los aminoácidos hidrófobos van a ser los principales puntos de interacción entre lípidos y proteínas; con esto se puede decir que las proteínas de tarwi al incorporarse en procesamientos de alimentos serán más estables al calor.

Aremu *et al.*, citado por Mercado (2012) mencionan que la CAA es importante porque el aceite actúa como agente que retiene el sabor, aumenta la sensación en la boca de los alimentos, mejora la palatabilidad y la extensión de la vida útil especialmente en productos de panadería o productos cárnicos; lo mencionado por los autores coincide con Aguilera (2010) quien afirma que la CAA es muy importante en la elaboración de alimentos fritos así como para la estabilidad en su almacenamiento debido a su influencia en el enranciamiento y en el desarrollo del poder oxidativo siendo estos dos aspectos de especial interés ya que determinan la aceptación del producto por parte del consumidor. Mercado (2012) en su investigación obtuvo valores de 1.38 y 0.85 g de aceite/g de aislado en aislados proteicos de sachá inchi y soya respectivamente; estos valores son menores a la CAA obtenida en el aislado proteico de tarwi (1.76 g de aceite/g de aislado) por lo tanto este aislado sería más efectivo para la incorporación en alimentos que tengan cantidades considerables de grasa.

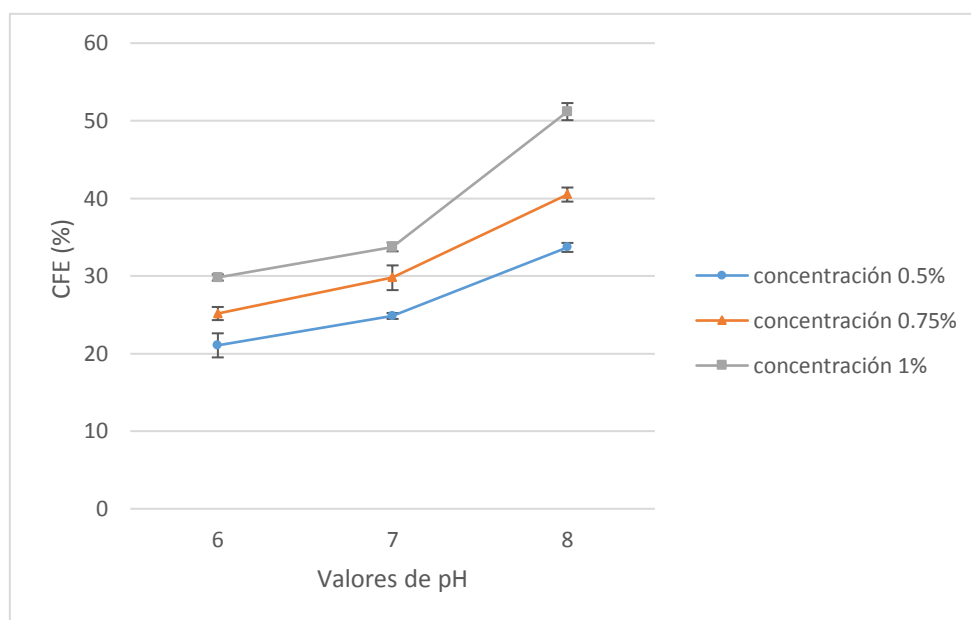
Akaerue y Onwuka (2010) mencionan que las porciones hidrofóbicas de las proteínas pueden interactuar con los lípidos durante el despliegue de las proteínas a temperaturas moderadas causando un incremento de la CAA, la cual es afectada por factores como el contenido proteico, el área superficial, la hidrofobicidad, la carga y topografía del lugar, la liquidez del aceite usado y el método utilizado.

Aguilera (2010) mencionan que a temperaturas de trabajo mayores a 45 °C durante la extracción de alcalina de la proteína ocurre cierta desnaturalización de la proteína lo cual

ocasiona una disminución de la CAA. En esta investigación la extracción de la proteína se realizó a pH de 10.5 y temperatura de 50°C por lo tanto, se pudo haber causado desnaturalización reduciendo el valor de la CAA en comparación si se hubiera extraído a temperaturas menores.

#### 4.6.4. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA (CFE)

Se evaluó que tanto se modifica la CFE cuando aumenta la concentración de proteína y cuando el pH aumenta. En esta investigación se trabajaron con tres concentraciones, 0.5, 0.75 y 1 por ciento evaluándose cada una a tres valores de pH diferentes (6, 7 y 8). Los resultados muestran diferencias significativas con respecto a aumentar el pH y también la concentración de proteína, por lo tanto se puede decir que la CFE tiene un comportamiento proporcional con respecto al pH y la concentración proteica. Esto corrobora lo mencionado por Vázquez *et al.*, citado por Jayasena *et al.* (2010) quienes mencionan que a medida que aumenta el pH existe una tendencia marcada con el aumento de la CFE provocada por el aislado proteico, es decir como el pH aumenta hacia la región alcalina, la carga neta de la proteína es mayor aumentando la interacción molecular lo que se traduce en una mejora de la CFE. El comportamiento mencionado se puede observar en la figura 13.



**Figura 13: Capacidad de formación de espuma a concentraciones de 0.5%, 0.75%, 1% y diferentes pH**

En las figuras se observa como la CFE, es decir el volumen de espuma va aumentando a medida que aumenta la concentración y pH. En esta investigación no se realizó aumento a

valores de pH más altos debido a que las matrices alimenticias a las que se puede incorporar un aislado proteico no son de naturaleza altamente alcalina. Según el ANVA todos los tratamientos tuvieron diferencias significativas y la prueba de comparación múltiple de Tukey indica que la CFE para concentración de 1 por ciento para los valores de pH analizados fue mejor que las concentraciones de 0.5 y 0.75 por ciento, resultando 51.18 por ciento de CFE a pH 8, 33.74 por ciento a pH 7 y 29.81 por ciento a pH 6.

Chaparro *et al.* (2014) afirma que la capacidad para formar espuma depende de la cantidad de proteínas presentes, de su estructura y de la habilidad relativa de esas proteínas para desnaturalizarse, precipitar y disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido de la espuma lo cual indica que se necesita buena cantidad de proteínas para tener capacidad espumante. Kimbonguila *et al.* (2010) afirma también que la CFE aumenta conforme se incrementa la concentración de sólidos, debido a un cambio en la viscosidad de la fase continua. Esto se pudo corroborar en la presente investigación debido a que al aumentar la concentración de sólidos se evidenció un aumento en la cantidad y resistencia de la espuma generada.

Autores como Martínez *et al.* (2011); Khalid *et al.*, citado por Mercado (2012) y Jayasena *et al.* (2010) afirman que cuando el pH se acerca al punto isoeléctrico la carga neta en la estructura de la proteína es mínima, lo cual la hace menos soluble y en consecuencia tiene menos flexibilidad para desarrollarse aumentando la tensión superficial, reduciendo la adsorción de la proteína en la interfaz aire-agua lo que lleva a una reducción de la CFE.

El valor de CFE para el aislado proteico de tarwi fue mayor que el determinado por Mercado (2012) para aislado proteico de soya (48.2%) al mismo pH (8) y concentración (1%) por lo tanto el aislado proteico de tarwi también puede ser incorporado en alimentos como lo hace un aislado proteico comercial como el de soya. Sin embargo, el aislado proteico de tarwi tuvo CFE menor que la determinada por hidrolisis enzimática por Castel (2010) para aislado proteico de amaranto (62.13%) esto se puede deber a que el autor afirma que la hidrolisis enzimática limitada para proteínas puede sustancialmente mejorar la espumabilidad, debido a la mayor exposición de áreas hidrofóbicas y flexibilidad molecular de los polipéptidos lo que mejora su afinidad por la interfase y aumenta la velocidad de adsorción.

Ionescu *et al.*, citado por Benelhadj *et al.* (2016) reporta que la pérdida de grasa conduce a una mejora de la CFE, debido a que la grasa perjudica notablemente la CFE de los aislados proteicos ya que los lípidos son más tensoactivos que las proteínas por lo que adsorben

rápidamente en la interfase aire-agua e impiden la adsorción de las proteínas durante la formación de la espuma. En la investigación tanto la torta desengrasada de tarwi como el aislado proteico de tarwi tuvieron valores menores de 0.5 por ciento por lo tanto según estos autores no tendría ningún efecto negativo sobre la CFE, mostrándose así el valor real de esta propiedad tecno-funcional.

Fennema citado por Mercado (2012) afirma que la CFE y estabilidad de espuma dependen de varios parámetros como el tipo de proteína y el grado de desnaturalización, ausencia o presencia de iones de calcio, pH, temperatura y los métodos de agitación. Con respecto a lo mencionado por los autores, las diferencias de resultados con otros autores pueden deberse al pH de extracción, temperatura de trabajo y al método de agitación ya que en esta investigación se trabajó la CFE con un homogenizador a 10000 RPM ya que otros autores como Mercado (2012) y Eltayeb *et al.* (2011) trabajaron con licuadora a máxima velocidad.

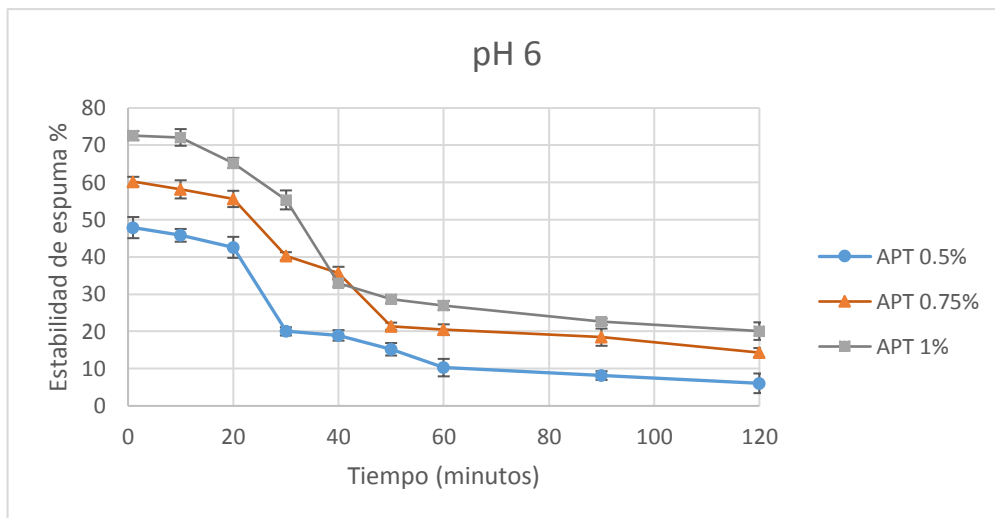
#### **4.6.5. ESTABILIDAD DE LA ESPUMA (EES)**

Muchos alimentos deben su textura característica a la existencia de una estructura espumada como panes, tortas esponjosas, merengues, helados, bebidas batidas y champagne; en cuyas espumas su estructura esta estabilizada por la presencia de proteínas adsorbidas en la interfase aire/ solución, estas imparten a los alimentos atributos de textura deseables en virtud de la capacidad de atrapar, encapsular y retener gas que generalmente es aire o dióxido de carbono (Silvas, 2013).

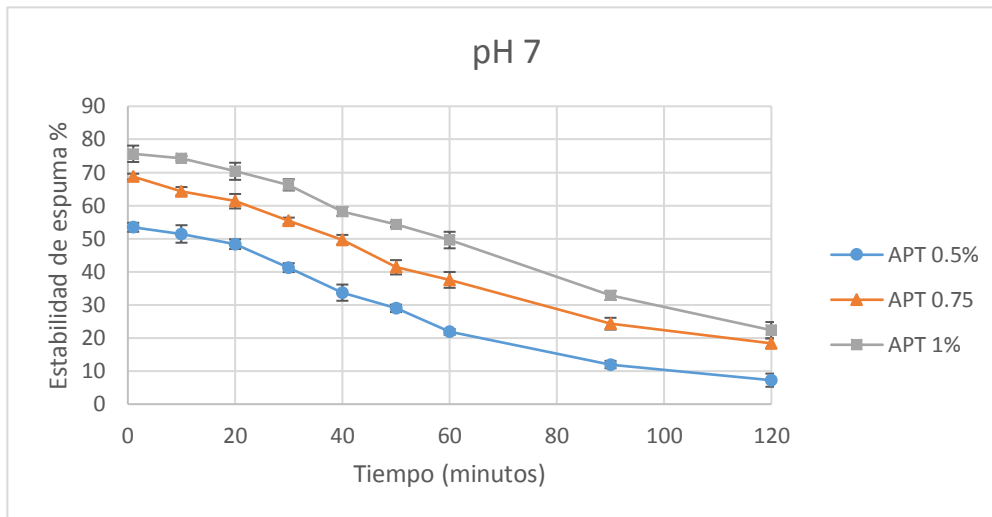
Las proteínas que poseen buenas propiedades espumantes generalmente son de origen animal (huevo o leche) pero debido a motivos nutricionales, a su alto costo y en muchas circunstancias a su falta de disponibilidad se están investigando las proteínas vegetales para poder utilizarse en reemplazo total o parcial de las mismas (Martínez *et al.* 2011).

La espuma formada por el aislado proteico de torta de tarwi fue más estable a medida que aumentó el pH y concentración es decir tuvo el mayor valor de EES a pH 8 y a 1 por ciento de concentración sin embargo para todas las concentraciones la EES no superó el 35 por ciento después de 120 minutos.

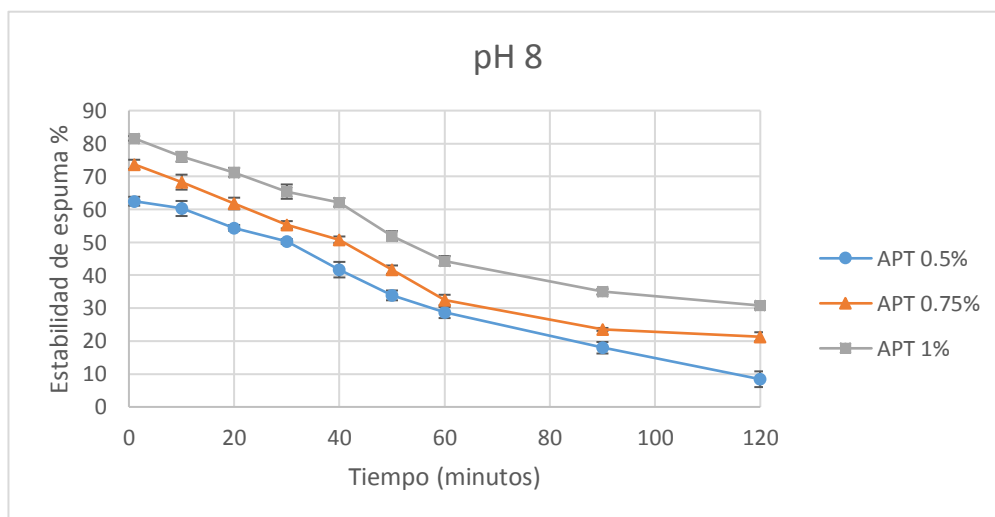
Nassar citado por Mercado (2012) menciona que la espuma es más estable a valores de pH alejados del punto isoeléctrico. Es decir, la región ácida como pH 2 y la región alcalina  $\text{pH} > 7$ . Jayasena *et al.* (2010) reportaron que existe una relación directa con el pH es decir conforme aumenta el valor de pH aumenta la EES. Lo mencionado por los autores se puede corroborar con los resultados obtenidos debido a que en los aislados a mayor concentración de proteína hubo mayor EES y lo mismo ocurrió con el pH.



**Figura 14: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 6**



**Figura 15: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 7**



**Figura 16: Estabilidad de la espuma (EES) formada por el APT (aislado proteico de tarwi a pH 8**



Delgado y Albarracin (2012) afirman que la espuma es un coloide de muchas burbujas de gas atrapadas en un líquido o sólido y la razón por la que se genera la espuma es porque las proteínas son de superficie activa. Las proteínas solubles pueden reducir la tensión superficial en la interfaz entre las burbujas de aire y el líquido rodeado. Por lo tanto, la coalescencia de las burbujas está obstruida; de acuerdo con el tipo de proteína las moléculas de proteína pueden desplegarse e interactuar entre sí para formar una película proteica multicapa con una mayor flexibilidad en la interfaz de líquido de aire, como resultado es más difícil que las burbujas de aire se rompan y así la espuma se estabiliza más.

Martínez *et al.* (2011) afirman que es recomendable que la estabilidad de la espuma sea entre 50 a 70 por ciento dependiendo del producto para los sistemas alimenticios que requieren espuma como las tortas y helados. Por lo tanto, de acuerdo a lo mencionado por los autores el aislado proteico de tarwi no sería adecuado para este tipo de productos ya que en el caso de 120 minutos después de formada la espuma tanto para pH 6 como 7 y como 8 la EES está por debajo del 35 por ciento.

Mercado (2012) quien trabajó con aislados proteicos de sachá inchi determinó para estos aislados a pH 8 y 1 por ciento de concentración, valores de EES de 33 por ciento un valor que en comparación al obtenido en esta investigación (30.78%) es considerablemente mayor. Esto puede deberse a lo afirmado por Aguilera (2010), quien menciona que las moléculas de proteínas flexibles presentan una excelente capacidad de formar una espuma más estable, sin embargo las moléculas ordenadas globulares como las globulinas y albúminas presentan menor CEE debido a que estas son incapaces de reducir la tensión superficial de la interfase aire-agua. Esto puede corroborarse ya que el tarwi posee en su estructura proteica mayor cantidad de globulinas en comparación del sachá inchi.

Ge *et al.*, citado por Deng *et al.* (2011) afirma que la solubilidad es a menudo necesaria para la Capacidad de Formación de Espuma, pero no siempre puede ayudar a la Estabilidad de Espuma. Eltayeb *et al.* (2011) y Chaparro *et al.* (2014) corroboran lo mencionado anteriormente por los autores, afirmando que las harinas con alta solubilidad y alta capacidad de formación de espuma pueden formar grandes burbujas de aire rodeadas de una película de proteína menos flexible, es decir que estas burbujas de aire pueden ser más fáciles de colapsar y en consecuencia reducen la estabilidad de formación de espuma. En esta investigación el aislado proteico de tarwi a pesar de ser evaluado a un pH de 8 tuvo una alta

solubilidad (83%); considerable CFE (51.18%) pero una baja EES a los 120 minutos, con lo que se puede corroborar lo mencionado por estos autores.

#### **4.6.6. CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN (CG)**

La CG resultó en los aislados proteicos con concentración de 15 y 20 por ciento debido a que el gel no fue lo suficientemente compacto en las concentraciones de 5 y 10 por ciento. Firatligil y Evranuz (2010) mencionan que la gelificación es un parámetro cualitativo que expresa la mínima concentración de proteína a la que el gel no se desliza a lo largo de las paredes de tubos de ensayo en posición invertida; afirmando que cuanto menor sea la concentración de gelificación mejor es la CG de las proteínas. Según Akintayo *et al.*, citado por Mercado (2012) la CG de distintas leguminosas oscila entre 12 a 15 por ciento de concentración de aislado proteico. De acuerdo con esto la concentración del aislado proteico de tarwi está dentro de estos valores ya que se necesitó una concentración de 15 por ciento para formar un gel estable.

Boye *et al.* (2010) mencionan que la CG no solo es afectada por la concentración proteica sino también por la presencia de componentes no proteicos lo cual corrobora Mercado (2012) quien afirma que la variación de la CG podría estar vinculada a la proporción relativa de los diferentes componentes de proteínas, carbohidratos y lípidos, ya que la interacción entre estos componentes puede afectar la CG. Es posible que este sea el motivo por el cual el aislado proteico de tarwi tuvo mayor CG que tanto para los aislados de soya determinado por Mercado (2012) y que el de spirulina determinado por Benelhadj *et al.* (2010) ya que estos tuvieron menor cantidad de componentes no proteicos en comparación con el aislado proteico obtenido en esta investigación.

Pomeranz citado por Mercado (2012) afirman que las proteínas forman dos tipos de geles: el coagulo y geles transparentes. El tipo de gel que forma una proteína está influenciado principalmente por su composición de aminoácidos; las proteínas que contienen una alta cantidad de aminoácidos no polares tienden a formar geles tipo coagulo, mientras que las proteínas que contienen una alta frecuencia de aminoácidos hidrófilos forman geles transparentes; esto es corroborado por Martínez *et al.* (2011) quien afirma que la gelificación no solo es función de la cantidad de proteína sino del tipo de proteína extraída. Laurente (2016) quien determinó el perfil de aminoácidos de 2 variedades de tarwi (Variedad Yunguyo y Variedad Negra de Sacatani) obtuvo mayor cantidad del aminoácido alanina

en relación con los otros aminoácidos; la alanina tiene como característica principal ser de carácter altamente hidrofóbico y de acuerdo con lo mencionado por los autores explicaría la consistencia y el tipo de gel formado por el aislado proteico de tarwi, el cual tuvo gel tipo coágulo.

Benelhadj *et al.* (2010) afirmó que autores que determinaron CG para las proteínas de microalgas obtuvieron valores muy bajos de CG (2.5%), lo cual se debe a la presencia de dicloruro de Calcio en estos aislados debido a que los iones de calcio tienen un efecto estabilizador sobre la estructura cuaternaria frente a la disociación. Por lo tanto, es posible que si el aislado proteico se incorpora en alimentos ricos en calcio como los lácteos se puedan obtener geles de baja y mejor CG. Sin embargo, la CG de varios aislados proteicos de fuentes vegetales (Anexo 34), están alrededor de los resultados obtenidos en esta investigación para el aislado proteico de torta de tarwi.

#### **4.6.7. CAPACIDAD DE EMULSIÓN (CE) Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN (EE)**

Los resultados de CE y EE para el aislado proteico de tarwi fueron 63.38 y 50.51 por ciento respectivamente. Comparando estos valores a los determinados por Mercado (2012) en aislados proteicos de sachá inchi (59.11 % de CE y 16.67% de EE) y de soya (55.81% de CE y 13.37% de EE) respectivamente. Kanu *et al.*, citado por Mercado (2012) mencionan que la desnaturalización y la solubilidad pueden mejorar la CE de las proteínas debido a la mayor superficie hidrofóbica y la flexibilidad, lo cual podría explicar la mayor CE del aislado proteico de tarwi debido a que tuvo valores de solubilidad mayores, además el aislado fue extraído a pH 10.5 y temperaturas de 50 °C, parámetros que son capaces de desnaturalizar ligeramente la proteína.

La estabilidad de emulsión depende del contenido de polielectrolitos (Eltayeb *et al.* 2011). Con esto se puede afirmar entonces que el tarwi tiene mayor contenido de estos compuestos en comparación de la soya y el sachá inchi, pero menor contenido que el germen de trigo ya que Hassan *et al.* (2010) determinó para la proteína de este producto una EE de 67.01 y EC de 70.28 por ciento.

Mune *et al.* (2011) mencionan que existen varios factores que influyen sobre la CE y EE como las características estructurales y químicas, el grado de hidrólisis, el contenido y arreglo de los aminoácidos, el peso molecular, las regiones hidrofóbicas, el tipo de agitación

y las condiciones que prevalecen en el medio tales como la temperatura, pH y efectos iónicos. En esta investigación se utilizó un equipo homogenizador a 10000 RPM, temperatura ambiente (25 °C) y no se trabajó con valores distintos de pH sino únicamente con pH 7. Jayasena *et al.* (2010) mencionan que existe una variación de CE en diferentes valores de pH sin embargo Vásquez *et al.*, citados por Mercado (2012) determinaron que la CE no parece estar influenciada por el pH, ya que en el rango evaluado los resultados de esta propiedad fueron muy similares.

Aguilar y Vélez (2013) quienes trabajaron con harina de garbanzo mencionan que la capacidad emulsionante se ve afectada por el tratamiento térmico, ya que cuando realizó sus pruebas en el producto crudo obtuvo mayor CE que en el producto cocido a microondas; pero mencionó que con respecto a la EE, todos los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento; lo mencionado por los autores corrobora con los resultados de Akaerue y Onwuka (2010) quien determinó una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) de la CE de aislados proteicos de frejol mungo al realizar tostado. En esta investigación, para determinar la CE y la EE el aislado proteico de tarwi solo se trabajó a temperatura ambiente.

Autores como Ogueke *et al.* (2010) afirman que para mejores propiedades tecno-funcionales de aislados proteicos es recomendable realizar el malteado, ya que determinó mayor CE para la proteína de soya malteada en comparación de la no malteada; lo cual según el autor se debe al mayor contenido proteico debido al malteado. En esta investigación no se realizaron pruebas de malteado, sin embargo es recomendable realizarlas en la materia prima antes de la extracción de aceite con el principal objetivo de que el malteado no influya en la calidad del aceite obtenido.

Prinyawiwatkul *et al.*, citado por Chaparro *et al.* (2014) mencionan que la CE está más influenciada por la calidad que por la cantidad de proteínas solubles; además menciona que la cantidad adecuada de proteínas solubles en la solución es necesaria para promover la trampa de las gotas de aceite lo que resulta en un aumento de la CE. Por lo tanto, se puede afirmar que gracias a la solubilidad mayor obtenida en el aislado de tarwi en comparación a los aislados de soya y de sachá inchi se pudieron tener valores de CE mayores.

Jayasena *et al.* (2010) mencionan que uno de los ejemplos de buen emulsionante comúnmente utilizado es la lecitina presente en la yema de huevo. Sin embargo, la lecitina es un ingrediente alimentario relativamente caro y hay una demanda de sustitutos de bajo

costo. Una de las posibilidades de sustitutos podría ser el aislado proteico de tarwi, ya que este es obtenido de un residuo de la industria aceitera (torta de tarwi); un residuo que muchas veces es eliminado y otras desechado motivo por el cual el costo de inversión es mínimo y se pueden tener aislados proteicos con propiedades tecno-funcionales muy buenas como las que se obtuvo en esta investigación para la CE y EE; valores mucho mayores en comparación con el aislado proteico de soya, el cual es altamente comercial.

Silvas (2013) afirma que las emulsiones son importantes por la utilidad y el buen aspecto que ofrecen a los consumidores siendo las mas importantes las oleoacuosas (aceite como fase dispersa y agua como la fase continua) sin embargo hay casos en los que no esta claramente definido el tipo de emulsión debido a que la fase interna o externa en lugar de ser homogénea contiene porciones de la fase contraria. Además, el autor afirma que la emulsión es un sistema de dos fases que consta de dos líquidos parcialmente miscibles uno de los cuales es dispersado en el otro en forma de glóbulos.

#### **4.7. COLOR DEL AISLADO PROTEICO**

Los resultados de la determinación de color (Cuadro 9) de la torta de tarwi, harina desgrasada y aislado proteico de tarwi muestran que el valor  $L^*$  se incrementó considerablemente desde que era torta de tarwi hasta la obtención del aislado proteico de tarwi. Silvas (2013) menciona que el color y la apariencia en general son los primeros indicadores de calidad de los productos alimenticios, además la presencia de un bajo índice de blancura (WI) posiblemente se debe a la presencia de compuestos fenólicos; el autor también afirma que para tener aislados menos oscuros se requieren condiciones inversas que para tener un mayor rendimiento; es decir mientras que para obtener un mayor rendimiento se requieren de pH de extracción más alcalinos para obtener aislados proteicos con mayor WI el pH no debe ser muy alcalino sino debe ser cercano a la neutralidad. Se podría decir entonces que las condiciones utilizadas en la extracción alcalina (pH 10.5; relación harina desgrasada: solvente 1:25; temperatura 50 °C; tiempo: 60 minutos) y procedimientos como el desgrasado, lavados con mezclas hidroalcohólicas y centrifugados que eliminan lípidos y compuestos fenólicos empleados para obtener el aislado proteico de tarwi; aumentaron el índice de blancura de la torta (WI= 39.15) hasta la obtención del aislado proteico (WI =59.59), sin embargo el uso de pH muy alcalino en la extracción no contribuyó a obtener aislados de máximos índices de blancura (WI).

Muzquiz *et al.* (2011) afirma que el color debe tomarse muy en cuenta cuando se van a enriquecer harinas de cereales con aislados proteicos, debido a que estos no deben modificar el color de las harinas en la elaboración de panes, galletas entre otros, siendo uno de los principales indicadores de calidad de los productos. En comparación con los aislados proteicos de soya ( $L^* 70.21$ ) y de sachá inchi ( $L^*= 73.20$ ) analizados por Mercado (2012) el aislado proteico de tarwi ( $L^*=77.14$ ) tuvo mayor valor de luminosidad teniendo mejor calidad con respecto al color y por lo tanto cuando se incorpore en alimentos no perjudicaría el color de éstos.

**Cuadro 9: Valores de escala de color CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y WI para la torta de tarwi, harina desgrasada de tarwi y aislado proteico de tarwi**

	<b>TORTA DE TARWI</b>	<b>HARINA DE TORTA DE TARWI DESGRASADA</b>	<b>AISLADO PROTEICO DE TARWI</b>
$L^*$	63.48±0.04	75.47±0.02	77.14±0.02
$a^*$	1.48±0.05	0.57±0.02	1.37±0.03
$b^*$	8.11±0.05	6.42±0.04	5.85±0.02
Índice de Blancura (WI= $L^* - 3b^*$ )	39.15±0.04	56.21±0.03	59.59±0.02

Molina *et al.* (2013) afirma que la eliminación de aldehídos, cetonas, alcoholes y fenoles es deseable ya que en presencia de oxígeno pueden oxidarse y reaccionar con los aminoácidos, modificando el color (parduzco) del aislado proteico. En la presente investigación se realizaron dos lavados (agua y mezcla hidroalcohólica) con el principal objetivo de eliminar compuestos fenólicos para que el índice de blancura sea lo más elevado posible y así durante el almacenamiento no afecten el color; por lo tanto según estos autores si no se hubieran realizado estos lavados el aislado proteico obtenido tendría un menor índice de blancura.

#### **4.8. POTENCIALES USOS DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

De acuerdo con los valores determinados en esta investigación con respecto a las propiedades tecno-funcionales del aislado proteico de tarwi, los potenciales usos y aplicaciones en la industria alimentaria pueden ser los siguientes:

**Cuadro 10: Usos potenciales del aislado proteico de tarwi**

<b>PROPIEDAD TECNO-FUNCIONAL</b>	<b>MATRICES ALIMENTICIAS DESTINADAS</b>
Capacidad de Retención de Agua (CRA)	Productos cárnicos frescos, carnes o pulpas de fruta congeladas, hamburguesas, quesos
Capacidad de Emulsión (CE) y Estabilidad de Emulsión (EE)	Tortas, productos lácteos, mayonesa, aderezos, carnes trituradas
Capacidad de Absorción de aceite (CAA)	Mezclas para pasteles, embutidos, productos lácteos, helados.

## V. CONCLUSIONES

- Es factible la obtención de un aislado proteico de un subproducto como la torta de tarwi, cuyos parámetros más adecuados y de máxima extracción proteica fueron pH 10.5, relación harina desgrasada: solvente 1:25, temperatura 50 °C y tiempo de 60 minutos.
- El rendimiento de extracción de aislado proteico fue de 57.8 por ciento con respecto a la harina desgrasada de torta de tarwi, la cual tiene 70.12 por ciento de proteínas en base seca.
- Con los parámetros de extracción establecidos la proteína de tarwi tuvo 91.27 por ciento de solubilidad proteica.
- El aislado proteico de tarwi tiene una composición en base seca de 91.79 por ciento de proteínas: 2.51 por ciento de cenizas, 0.22 por ciento de grasa, 0.14 por ciento de fibra y 5.34 por ciento de carbohidratos.
- Las propiedades tecno-funcionales del aislado proteico de tarwi presentaron valores con rangos comerciales para: solubilidad, CAA, CRA, CFE, CE y EE; y las de menores magnitudes fueron CG y EES a los 120 minutos.



## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar pruebas en diversas matrices alimenticias incorporando el aislado proteico de tarwi de acuerdo con sus características tecno-funcionales.
- Realizar un estudio de optimización de la extracción de las proteínas de tarwi utilizando la metodología de superficie respuesta.
- Determinar el perfil aminoacídico y la calidad nutricional del aislado proteico de tarwi.
- Evaluar y comparar las propiedades tecno-funcionales de un aislado proteico de tarwi obtenido por extracción alcalina y de otro obtenido en el proceso de optimización.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adrianzén, N; Rojas, C; Linares, G. 2011. Efecto de la temperatura y tiempo de tratamiento térmico de las almendras trituradas de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sobre el rendimiento y las características físico-químicas del aceite obtenido por prensado mecánico en frío. *Agroindustrial Science* 1(2):46-55.
- Aguilar, A. 2015. Evaluación del rendimiento de grano y capacidad simbiótica de once accesiones de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), bajo condiciones de Otuzco-La Libertad. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Aguilera, Y. 2010. Harinas de leguminosas deshidratadas: caracterización nutricional y valoración de sus propiedades tecnofuncionales. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Aguilar, V; Vélez, J. 2013. Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 7(2):25-34.
- Akaerue, B; Onwuka, G. 2010. Evaluation of the yeild, protein content and functional properties of Mungbean (*Vigna radiata* Wilczek) protein isolates as affected by processing. *Pakistan Journal of Nutrition* 9(8):728-735.
- Arango, O; Bolaños, V; Ricaurte, D; Caicedo, M; Guerrero, Y. 2012. Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). *Universidad y Salud*, 14(2): 161-167.
- Arauco, E. 2011. Caracterización de la variabilidad fenotípica y componentes de rendimiento de colecciones de tarwi (*Lupinus mutabilis* S.) de la región central del Perú. 8(3): 145-151.
- Araneda, 2012. Desamargado de lupino (*Lupinus albus*) mediante extracción de alcaloides. *Revista Innovagro*. Santiago de Chile, Chile. 110p.
- Asgar, M; Fazilah, A; Huda, N; Bhat, R; Karim, A. 2010. Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9(5):513-529.

- Aurelia, I; Iuliana, A; Margareta, Z; Gabriela, G. 2009. Functional characterization of lupin protein concentrate treated with bacterial transglutaminase. *The Annals of the University of Dunarea de Jos of Galati*. 32(4): 19-32.
- Barac, M; Cabrilo, S; Pesic, M; Stanojevic, S; Zilic, S; Macej, O; Ristic, N. 2010. Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes. *International Journal of Molecular Sciences* 11(12): 4973-4990.
- Benelhadj, S; Gharsallaoui, A; Degraeve, P; Attia, H; Ghorbel, D. 2016. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. *Food chemistry*, 19(4): 1056-1063.
- Berti, P; Villacrés, E; Segovia, G; Mazon, N; Peralta, I. 2013. *Lupinus mutabilis* Sweet, a traditional Ecuadorian grain: Fatty acid composition, use in the Ecuadorian food system, and potential for reducing malnutrition. 42p.
- Bonilla, J; Calderón, A. 2017. Estudio de la utilización de harina de chocho, extracto de levadura y goma guar en pan de molde: optimización mediante metodología de superficie de respuesta. Tesis Ing. Quito, Ecuador, UCE.
- Bouchenak, M; Lamri, M. 2013. Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *Journal of Medicinal Food*, 16(3), 185-198.
- Boye, J; Aksay, S; Roufik, S; Ribéreau, S; Mondor, M; Farnworth, E; Rajamohamed, H. 2010. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International* 43(2): 537-546.
- Boye, J; Zare, F; Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food research international* 43(2): 414-431.
- Butt, M; Batool, R. 2010. Nutritional and functional properties of some promising legumes protein isolates. *Pakistan Journal of Nutrition* 9(4): 373-379.
- Camarena, F; Huaranga, A; Jiménez, J; Mostacero, E. 2012. Revalorización de un cultivo subutilizado: Chocho o Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). Lima, Perú.
- Cárdenas, M. 2016. Obtención de aislados proteicos de chíá (*Salvia hispánica* L.) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante. Tesis Ing. Ambato, Ecuador, Universidad Técnica de Ambato.
- Carvajal, L; Van, M; Koziol, M; Nout, M; Linnemann, M. 2012. Effect of processing on the diffusion of alkaloids and quality of *Lupinus mutabilis* Sweet. *Journal of Food Processing and Preservation* ISSN 12(8) 1745-4549.

- Carvajal, F; Linnemann, A; Nout, M; Koziol, M; Van, M. 2016. *Lupinus mutabilis*: composition, uses, toxicology, and debittering. *Critical reviews in food science and nutrition* 56(9): 1454-1487.
- Castel, M. 2010. Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto. Buenos Aires, Argentina.
- Chambal, B; Bergenståhl, B; Dejmek, P. 2012. Edible proteins from coconut milk press cake; one step alkaline extraction and characterization by electrophoresis and mass spectrometry. *Food Research International* 47(2): 146-151.
- Chamorro, R; Alegre, K. 2010. Elaboración de pan con sustitución parcial de harina precocida de ñuña (*Phaseoleus vulgaris L.*) y tarwi (*Lupinus mutabilis*). *Revista de investigacion en Ciencia y Tecnologia de Alimentos* 1(1): 15-28.
- Chang, S; Ismail, A; Yanagita, T; Esa, N; Baharuldin, M. 2014. Biochemical characterisation of the soluble proteins, protein isolates and hydrolysates from oil palm (*Elaeis guineensis*) kernel. *Food Bioscience* 1(7): 1-10.
- Chaparro, S; Tavera, M; Martínez, J; Gil, J. 2014. Functional Properties of flour and protein isolates from *Annona muricata* SEEDS. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica* 17(1): 151-159.
- Chee, K; Ayob, M. 2013. Optimization of hexametaphosphate-assisted extraction and functional characterization of palm kernel cake protein. *Food Science and Technology International* 19(2): 109-122.
- Chel, L; Gallegos, S; Martínez, A; Castellanos, A; Betancur; D. 2011. Functional properties of proteins from lima bean (*Phaseolus lunatus L.*) seeds. *Food Science and Technology International* 17(2): 119-126.
- Compaoré, W; Nikièma, P; Bassolé, H; Savadogo, A; Mouecoucou, J. 2011. Chemical composition and antioxidative properties of seeds of *Moringa oleifera* and pulps of *Parkia biglobosa* and *Adansonia digitata* commonly used in food fortification in Burkina Faso. *Current Research Journal of Biological Sciences* 3(1): 64-72.
- Cossio, P; Blanco, M; Baudoin, J. 2010. Primer congreso peruano de mejoramiento genético y biotecnología agrícola: proceedings Conservación de germoplasma de tarwi [*Lupinus mutabilis Sweet*] en Cusco. Tesis Ing. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Delgado, N; Albarracín, W. 2012. Microestructura y propiedades funcionales de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa W*) y chachafruto (*Erythrina edulis*): potenciales extensores cárnicos. *Vitae*, 19(1): 430-432.

- Deng, Q; Wang, L; Wei, F; Xie, B; Huang, F; Huang, W; Xue, S. 2011. Functional properties of protein isolates, globulin and albumin extracted from Ginkgo biloba seeds. Food Chemistry 124(4): 1458-1465.
- Eltayeb, A; Ali, A; Abou, A; Abu, F. 2011. Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). African Journal of Food Science 5(2): 82-90.
- FAO. 2013. Food and agriculture organization of the united nations. USA 5 p. Consultado 17 jun. 2018. Disponible en: [http://coin.fao.org/coin-static/cms/media/12/13553288647870/11\\_-\\_fao\\_liberia\\_calendar\\_2013.pdf](http://coin.fao.org/coin-static/cms/media/12/13553288647870/11_-_fao_liberia_calendar_2013.pdf).
- Fennema, O. 2000. Química de los alimentos. Segunda Edición. Zaragoza, España, Acribia. 385p.
- Firatligil, E; Evranuz, O. 2010. Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*). LWT-Food Science and Technology 43(2): 226-231.
- Gallegos, S; Chel, L; Martínez, A.. 2013. Péptidos con actividad antioxidante de proteínas vegetales. OmniaScience Monographs.13(5): 15-28.
- Glencross, B; Sweetingham, M; Hawkins, W. 2010. A digestibility assessment of pearl lupin (*Lupinus mutabilis*) meals and protein concentrates when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 303(14): 59-64.
- Ghaly, A; Alkoaik, F. 2010. Extraction of protein from common plant leaves for use as human food. American Journal of Applied Sciences 7(3):300- 331.
- Gutiérrez, A; Infantes, M; Pascual, G; Zamora, J. 2016. Evaluación de los factores en el desamargado de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). Agroindustrial Science 6(1): 145-149.
- Hassan, H; Afify, A; Basyiony, A; Ahmed, G; Ghada, T. 2010. Nutritional and functional properties of defatted wheat protein isolates. Aust J Basic Appl Sci 4(2): 348-358.
- Huaranga, 2010. Zonas Ecológicas de cultivo y usos alimenticios del tarwi. Seminario Científico Cultural de plantas exitosas del Perú para el mundo. Lima, Perú, Universidad Ricardo Palma.
- INEI. (2017). Situación de la población adulta mayor: Octubre- Noviembre- Diciembre 2016. Informe Técnico No .3.
- Jayasena, V; Chih, H; Nasar, S. 2010. Functional properties of sweet lupin protein isolated and tested at various pH levels. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 6(2): 130-137.

- Jeantet, R; Croguennec, T; Schuck, P; Brulé, G. 2010. Ciencia de los alimentos: bioquímica, microbiología, procesos y productos. Zaragoza, España, Acribia S.A. Vol.1, 1391 p.
- Klupsaite, D; Juodeikiene, G. 2015. Legume: Composition, protein extraction and functional properties. Kauno technologijus universitetas. Review pl.19, LT-50254. Kaunas, Lietuva.
- Kimbonguila, A; Nzikou, J; Matos, L; Loumouamou, B; Ndangui, C; Pambou, N; Desobry, S. 2010. Proximate composition and physicochemical properties on the seeds and oil of *Annona muricata* grown in Congo-Brazzaville. Research Journal of Environmental and Earth Sciences 2(1): 13-18.
- Laurente, Y. 2016. Obtención del concentrado proteico y determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). Tesis Ing. Puno, Perú, Universidad Nacional del Altiplano.
- Mahajan, A; Ahluwalia, A. 2010. Effect of processing on functional properties of Spirulina protein preparations. African Journal of Microbiology Research 4(1): 055-060.
- Martínez, J; Medina, O; Zambrano, R. 2011. Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis f*). Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, 9(1).
- Mercado Romero, J. 2012. Obtención de un aislado proteico a partir de tortas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*) y evaluación de sus propiedades tecno-funcionales. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM
- Molina, C; Lucas, M; Jover, M. 2013. Evaluation of the potential of Andean lupin meal (*Lupinus mutabilis Sweet*) as an alternative to fish meal in juvenile *Litopenaeus vannamei* diets. Aquaculture 4(10): 148-156.
- Mune, M; Minka, S; Mbome, I; Etoa, F. 2011. Nutritional potential of bambara bean protein concentrate. Pakistan Journal of Nutrition 11(5): 115-126.
- Múzquiz, M; Guillamon, E; Burbano, C; Pascual, H; Cabellos, B; Cuadrado, C; Pedrosa, M. 2011. Chemical composition of a new *Lupinus* species found in Spain, *Lupinus mariae-josephi* H. Pascual (*Fabaceae*). Spanish Journal of Agricultural Research 9(4): 1233-1244.
- Nadal, P; Canela, N; Katakis, I; O'Sullivan, C. 2011. Extraction, isolation and characterization of globulin proteins from *Lupinus albus*. Journal of agricultural and food chemistry 59(6): 2752-2758.

- Navarrete, M. 2011. Extracción, Refinación, y Caracterización Físico-Química y Nutracéutica del Aceite de Chocho (*Lupinus mutabilis sweet*). Tesis Ing, Quito, Ecuador, EPN.
- Navarro, C; Restrepo, D; Perez, J. 2014. El guandul (*Cajanus cajan*) una alternativa en la industria de los alimentos. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 12(2): 197-206.
- Ogueke, C; Owuamanam, C; Iwouno, J. 2010. Functional properties and proximate composition of asparagus bean (*Vigna sesquipedalis*) as influenced by malting. Journal of American Science, 6(9):115-122.
- Ogundele, J. 2010. Proximate composition and some functional properties of three varieties of Lagenaria siceraria melon seeds. Journal of Agriculture and Biological Sciences, 6(2): 108-112.
- Ogunwolu, S; Henshaw, F; Mock, H; Matros, A. 2010. Production of protein concentrate and isolate from cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 10(5): 458-491.
- Onsaard, E; Pomsamud, P; Audtum, P. 2010. Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. Asian Journal of Food and Agro-Industry, 3(4): 420-431.
- Ortega, E; Rodríguez, A; David, A; Zamora, Á. 2010. Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. 59(1): 321-330.
- Padilla, F; Guédez, T; Alfaro, M; Regnault, M; Rincón, A. 2010. Fraccionamiento y caracterización de las proteínas solubles de la harina de nuez de Barinas (*Caryodendron orinocense K.*). Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, 41(1): 38-42.
- Porras, J. 2010. Caracterización del proceso de obtención de aislados de proteína de Lupinus silvestre del estado de Hidalgo.
- Porras, J; Guemez, N; Montañez, J; Carmen, M. 2013. Comparative study of functional properties of protein isolates obtained from three Lupinus species. Advances in Bioresearch 11(4): 106-116.
- Quispe Sanca, D. 2015. Composición nutricional de diez genotipos de lupino (*L. Mutabilis* y *L. Albus*) desamargados por proceso acuoso. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM
- Saavedra, N; Algecira, N; 2010. Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. Revista Nova 8(14): 452-481.

- Sai-Ut, S; Ketnawa, S; Chaiwut, P; Rawdkuen, S. 2009. Biochemical and functional properties of proteins from red kidney, navy and adzuki beans. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2(4): 493-504.
- Santacruz, S; Pennanen, M; Ruales, J. 2012. Protein enrichment of oriental noodles based on *canna edulis* starch. *Revista Boliviana de Química* 29(1): 97-110.
- Schoeneberger, H; Gross, R; Cremer, D; Elmadfa, I; 2015. Composition and protein quality of *Lupin Mutabilis*. *Journal of Nutrition* 112(1):70-77.
- Scopes, R. 2013. *Protein purification: principles and practice*: Springer Science & Business Media. Guadalajara, México. *Revista de Tecnología Alimentaria*. 1(2): 3025-3029.
- Silvas, J; Cruz, J; Arana, A. 2013. Obtención de Aislados proteicos de la semilla de chia (*Salvia hispánica*).
- Sosa, I. 2000. Influencia de dos métodos de extracción de un aislado proteico de lupino (*Lupinus mutabilis*) en sus propiedades funcionales. Tesis Mg.Sc. Lima, Perú, UNALM.
- Suca, G. 2016. Potencial del tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) como futura fuente proteínica y avances de su desarrollo agroindustrial. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química* 18(2): 55-71.
- Zare, V. 2014. Secado del tarwi (*Lupinus mutabilis*) por combinación de microondas y aire caliente. *Agroindustrial Science* 3(2): 147-154.
- Zhang, T; Jiang, B; Wang, Z. 2007. Gelation properties of chickpea protein isolates. *Food Hydrocolloids* 21(2): 280-286.



## **VIII. ANEXOS**

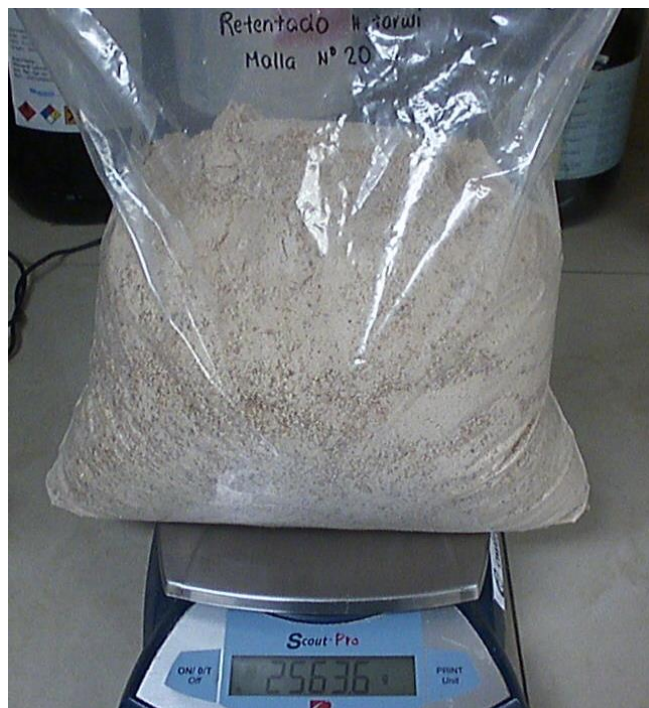
### **ANEXO 1: TARWI O LUPINO EN BANDEJAS LISTO PARA DESHIDRATAR**



### **ANEXO 2: TARWI DESHIDRATADO LISTO PARA LA MOLIENDA**



**ANEXO 3: TARWI TAMIZADO EN MALLA 20 PARA DESPUÉS REALIZAR LA EXTRACCIÓN DE ACEITE**



**ANEXO 4: TORTA Y ACEITE DE TARWI DURANTE LA EXTRACCIÓN EN EXPELLER**



**ANEXO 5: TORTA DE TARWI OBTENIDA DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE**



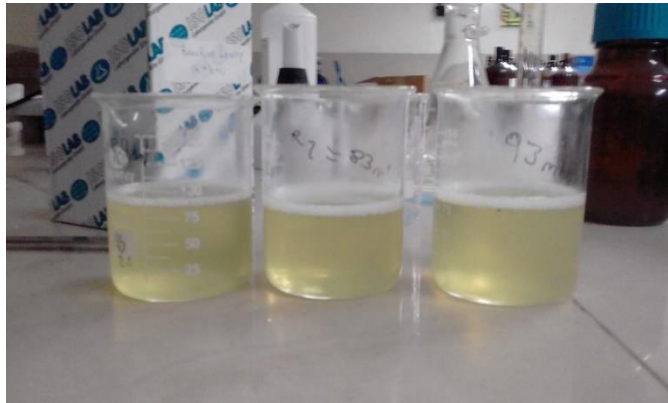
**ANEXO 6: EXTRACCIÓN PROTEICA DE LA HARINA DESGRASADA DE TARWI**



**ANEXO 7: EQUIPO UTILIZADO PARA LA FILTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PROTEICA**



## **ANEXO 8: EXTRACTOS PROTEICOS LISTOS PARA LA PRECIPITACIÓN**



## **ANEXO 9: EXTRACTOS PROTEICOS AJUSTADOS A PH CERCANO AL PUNTO ISOELÉCTRICO**



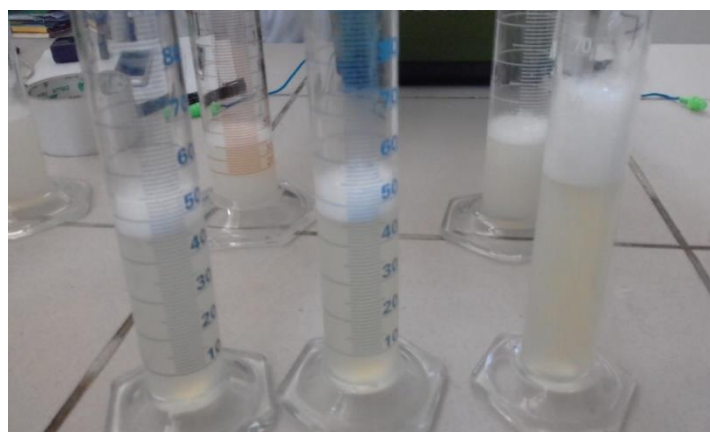
## **ANEXO 10: COAGULO PROTEICO LISTO PARA SER LAVADO CON AGUA Y ALCOHOL**



**ANEXO 11: AISLADO PROTEICO EN POLVO OBTENIDO DURANTE EL PROCESO DE ATOMIZACIÓN**



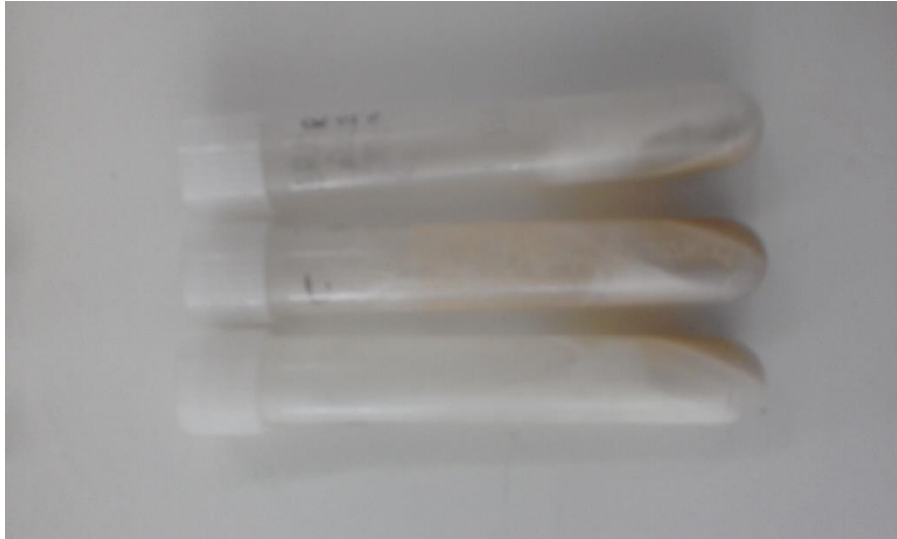
**ANEXO 12: CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA A DIFERENTES CONCENTRACIONES (PH 8)**



**ANEXO 13: DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD PROTEICA DE EXTRACTOS PROTEICOS**



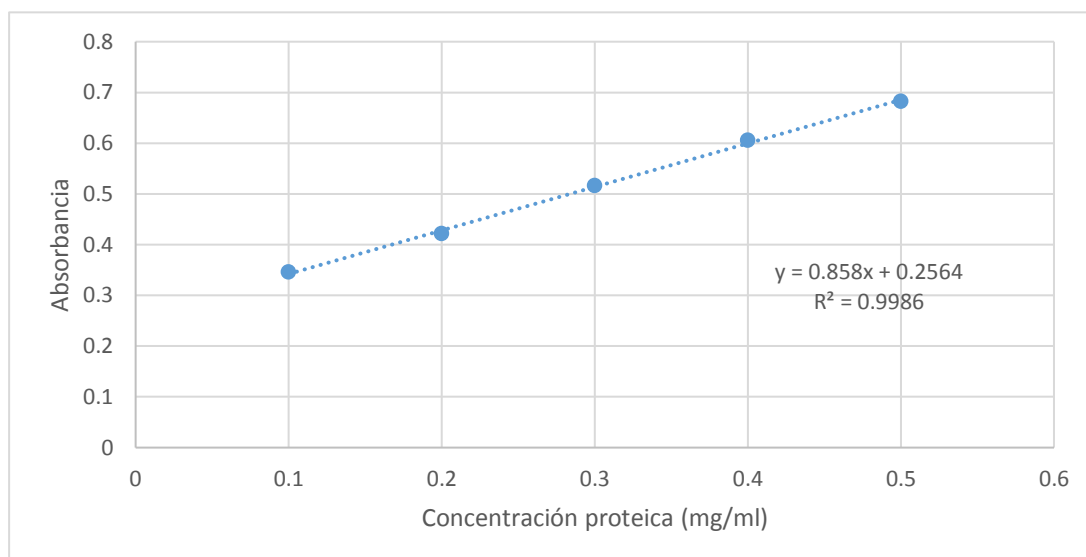
**ANEXO 14: DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA)**



**ANEXO 15: DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD GELIFICANTE A DIFERENTES CONCENTRACIONES (5%, 10%, 15% Y 20% RESPECTIVAMENTE)**



## ANEXO 16: CURVA ESTÁNDAR DE SOLUCIÓN DE ALBÚMINA MEDIANTE EL MÉTODO DE LOWRY



## ANEXO 17: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL PH DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA

pH		Absorbancia	Volumen (ml)	Concentración de proteína mg/ml	Concentración de proteína mg en 6.5ml de solución y 0.05 ml de proteína	mg de proteína en 1 ml de solución proteica.	mg de proteína en el volumen de proteína	Proteína soluble (gramos)	Promedio
8.5	R1	0.369	38	0.131	0.853	17.061	648.303	0.65	0.64
	R2	0.367		0.129	0.838	16.758	636.788	0.64	
	R3	0.369		0.131	0.853	17.061	648.303	0.65	
9	R1	0.4	37	0.167	1.088	21.758	805.030	0.81	0.78
	R2	0.391		0.157	1.020	20.394	754.576	0.75	
	R3	0.397		0.164	1.065	21.303	788.212	0.79	
9.5	R1	0.405	35	0.173	1.126	22.515	788.030	0.79	0.82
	R2	0.41		0.179	1.164	23.273	814.545	0.81	
	R3	0.42		0.191	1.239	24.788	867.576	0.87	
10	R1	0.432	35	0.205	1.330	26.606	931.212	0.93	0.98
	R2	0.441		0.215	1.398	27.970	978.939	0.98	
	R3	0.45		0.226	1.467	29.333	1026.667	1.03	
10.5	R1	0.477	37	0.257	1.671	33.424	1236.697	1.24	1.24
	R2	0.462		0.240	1.558	31.152	1152.606	1.15	
	R3	0.495		0.278	1.808	36.152	1337.606	1.34	

## ANEXO 18: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO PH

### Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína Soluble por Tratamiento pH

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento pH	Casos	Media	Grupos Homogéneos
8.5	3	0.646667	X
9	3	0.783333	X
9.5	3	0.823333	X
10	3	0.98	X
10.5	3	1.24333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
8.5 - 9	*	-0.136667	0.0970657
8.5 - 9.5	*	-0.176667	0.0970657
8.5 - 10	*	-0.333333	0.0970657
8.5 - 10.5	*	-0.596667	0.0970657
9 - 9.5		-0.04	0.0970657
9 - 10	*	-0.196667	0.0970657
9 - 10.5	*	-0.46	0.0970657
9.5 - 10	*	-0.156667	0.0970657
9.5 - 10.5	*	-0.42	0.0970657
10 - 10.5	*	-0.263333	0.0970657

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 19: RESULTADOS PARA DETERMINAR LA RELACIÓN HARINA DESGRASADA/SOLVENTE DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA

Mp/Solvente		Absorbancia	Volumen (ml)	Concentración de proteína mg/ml	Concentración de proteína mg en 6.5ml de solución y 0.05 ml de proteína	mg de proteína en 1 ml de solución proteica.	mg de proteína en el volumen de proteína	Proteína soluble (gramos)	Promedio
1:15	R1	0.498	20	0.28	1.83	36.61	732.12	0.73	0.73
	R2	0.492		0.27	1.78	35.70	713.94	0.71	
	R3	0.501		0.29	1.85	37.06	741.21	0.74	
1:20	R1	0.436	35	0.21	1.36	27.21	952.42	0.95	0.94
	R2	0.428		0.20	1.30	26.00	910.00	0.91	
	R3	0.435		0.21	1.35	27.06	947.12	0.95	
1:25	R1	0.42	53	0.19	1.24	24.79	1313.76	1.31	1.25
	R2	0.404		0.17	1.12	22.36	1185.27	1.19	
	R3	0.412		0.18	1.18	23.58	1249.52	1.25	
1:30	R1	0.379	63	0.14	0.93	18.58	1170.27	1.17	1.16
	R2	0.374		0.14	0.89	17.82	1122.55	1.12	
	R3	0.381		0.15	0.94	18.88	1189.36	1.19	
1:35	R1	0.335	84	0.09	0.60	11.91	1000.36	1.00	0.95
	R2	0.328		0.08	0.54	10.85	911.27	0.91	
	R3	0.331		0.09	0.57	11.30	949.45	0.95	
1:40	R1	0.312	105	0.06	0.42	8.42	884.55	0.88	0.93
	R2	0.318		0.07	0.47	9.33	980.00	0.98	
	R3	0.314		0.07	0.44	8.73	916.36	0.92	



## ANEXO 20: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO HARINA DESGRASADA/SOLVENTE

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína Soluble por Tratamiento mp:solvente

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1:15	3	0.726667	X
1:40	3	0.926667	X
1:20	3	0.936667	X
1:35	3	0.953333	X
1:30	3	1.16	X
1:25	3	1.25	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1:15 - 1:20	*	-0.21	0.113278
1:15 - 1:25	*	-0.523333	0.113278
1:15 - 1:30	*	-0.433333	0.113278
1:15 - 1:35	*	-0.226667	0.113278
1:15 - 1:40	*	-0.2	0.113278
1:20 - 1:25	*	-0.313333	0.113278
1:20 - 1:30	*	-0.223333	0.113278
1:20 - 1:35		-0.0166667	0.113278
1:20 - 1:40		0.01	0.113278
1:25 - 1:30		0.09	0.113278
1:25 - 1:35	*	0.296667	0.113278
1:25 - 1:40	*	0.323333	0.113278
1:30 - 1:35	*	0.206667	0.113278
1:30 - 1:40	*	0.233333	0.113278
1:35 - 1:40		0.0266667	0.113278

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 21: RESULTADOS PARA DETERMINAR LA TEMPERATURA DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA

Temperatura (°C)		Absorbancia	Volumen (ml)	Concentración de proteína mg/ml	Concentración de proteína en 6.5ml de solución y 0.05 ml de proteína	mg de proteína en 1 ml de solución proteica.	mg de proteína en el volumen de proteína	Proteína soluble (gramos)	Promedio
25	R1	0.455	52	0.23	1.50	30.09	1564.73	1.56	1.60
	R2	0.461		0.24	1.55	31.00	1612.00	1.61	
	R3	0.462		0.24	1.56	31.15	1619.88	1.62	
40	R1	0.564	50	0.36	2.33	46.61	2330.30	2.33	2.26
	R2	0.551		0.34	2.23	44.64	2231.82	2.23	
	R3	0.549		0.34	2.22	44.33	2216.67	2.22	
50	R1	0.593	50	0.39	2.55	51.00	2550.00	2.55	2.55
	R2	0.588		0.39	2.51	50.24	2512.12	2.51	
	R3	0.598		0.40	2.59	51.76	2587.88	2.59	
60	R1	0.562	48	0.36	2.32	46.30	2222.55	2.22	2.24
	R2	0.568		0.36	2.36	47.21	2266.18	2.27	
	R3	0.563		0.36	2.32	46.45	2229.82	2.23	
70	R1	0.549	47	0.34	2.22	44.33	2083.67	2.08	2.11
	R2	0.551		0.34	2.23	44.64	2097.91	2.10	
	R3	0.556		0.35	2.27	45.39	2133.52	2.13	

## ANEXO 22: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO TEMPERATURA

### Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína Soluble por Tratamiento Temperatura

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
25	3	1.59667	X
70	3	2.10333	X
60	3	2.24	X
40	3	2.27	X
50	3	2.55	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
25 - 40	*	-0.673333	0.0683943
25 - 50	*	-0.953333	0.0683943
25 - 60	*	-0.643333	0.0683943
25 - 70	*	-0.506667	0.0683943
40 - 50	*	-0.28	0.0683943
40 - 60		0.03	0.0683943
40 - 70	*	0.166667	0.0683943
50 - 60	*	0.31	0.0683943
50 - 70	*	0.446667	0.0683943
60 - 70	*	0.136667	0.0683943

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 23: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL TIEMPO DE MÁXIMA EXTRACCIÓN PROTEICA

Tiempo (min)		Absorbancia	Volumen (ml)	Concentracion de proteína mg/ml	Concentracion de proteína mg en 6.5ml de solución y 0.05 ml de proteína	mg de proteína en 1 ml de solución proteica.	mg de proteína en el volumen de proteína	Proteína soluble (gramos)	Promedio
20	R1	0.503	53	0.29	1.87	37.36	1980.27	1.98	2.01
	R2	0.508		0.29	1.91	38.12	2020.42	2.02	
	R3	0.51		0.30	1.92	38.42	2036.48	2.04	
30	R1	0.528	53	0.32	2.06	41.15	2181.03	2.18	2.20
	R2	0.536		0.33	2.12	42.36	2245.27	2.25	
	R3	0.527		0.32	2.05	41.00	2173.00	2.17	
40	R1	0.541	52	0.33	2.16	43.12	2242.30	2.24	2.26
	R2	0.548		0.34	2.21	44.18	2297.45	2.30	
	R3	0.54		0.33	2.15	42.97	2234.42	2.23	
50	R1	0.551	52	0.34	2.23	44.64	2321.09	2.32	2.32
	R2	0.554		0.35	2.25	45.09	2344.73	2.34	
	R3	0.547		0.34	2.20	44.03	2289.58	2.29	
60	R1	0.593	50	0.39	2.55	51.00	2550.00	2.55	2.60
	R2	0.601		0.40	2.61	52.21	2610.61	2.61	
	R3	0.604		0.41	2.63	52.67	2633.33	2.63	
70	R4	0.581	50	0.38	2.46	49.18	2459.09	2.46	2.47
	R5	0.585		0.38	2.49	49.79	2489.39	2.49	
	R6	0.581		0.38	2.46	49.18	2459.09	2.46	

## ANEXO 24: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL TRATAMIENTO TIEMPO

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína Soluble por Tratamiento Tiempo minutos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
20	3	2.01333	X
30	3	2.2	X
40	3	2.25667	XX
50	3	2.28333	X
70	3	2.47	X
60	3	2.59667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20 - 30	*	-0.186667	0.0646886
20 - 40	*	-0.243333	0.0646886
20 - 50	*	-0.27	0.0646886
20 - 60	*	-0.583333	0.0646886
20 - 70	*	-0.456667	0.0646886
30 - 40		-0.056667	0.0646886
30 - 50	*	-0.0833333	0.0646886
30 - 60	*	-0.396667	0.0646886
30 - 70	*	-0.27	0.0646886
40 - 50		-0.026667	0.0646886
40 - 60	*	-0.34	0.0646886
40 - 70	*	-0.213333	0.0646886
50 - 60	*	-0.313333	0.0646886
50 - 70	*	-0.186667	0.0646886
60 - 70	*	0.126667	0.0646886

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 25: RESULTADOS PARA DETERMINAR EL PUNTO ISOELÉCTRICO DE LA PROTEÍNA DE TARWI

Punto Isoelectrico		Absorbancia	Volumen (ml)	Concentracion de proteina mg/ml	Concentracion de proteina mg en 6.5ml de solucion y 0.05 ml de proteina	mg de proteina en 1 ml de solucion proteica.	mg de proteina en el volumen de proteina	Proteína soluble (gramos)	Promedio
4.2	R1	0.321	46	0.08	0.49	9.79	518.76	0.52	0.62
	R2	0.347		0.11	0.69	13.73	727.55	0.73	
	R3	0.333		0.09	0.58	11.61	615.12	0.62	
4.4	R1	0.287	48	0.04	0.23	4.64	245.73	0.25	0.24
	R2	0.287		0.04	0.23	4.64	245.73	0.25	
	R3	0.283		0.03	0.20	4.03	213.61	0.21	
4.6	R1	<b>0.297</b>	48	<b>0.05</b>	<b>0.31</b>	<b>6.15</b>	<b>319.88</b>	<b>0.32</b>	<b>0.31</b>
	R2	<b>0.292</b>		<b>0.04</b>	<b>0.27</b>	<b>5.39</b>	<b>280.48</b>	<b>0.28</b>	
	R3	<b>0.298</b>		<b>0.05</b>	<b>0.32</b>	<b>6.30</b>	<b>327.76</b>	<b>0.33</b>	
4.8	R1	0.32	47	0.07	0.48	9.64	501.09	0.50	0.42
	R2	0.31		0.06	0.41	8.12	422.30	0.42	
	R3	0.301		0.05	0.34	6.76	351.39	0.35	
5	R1	0.328	47	0.08	0.54	10.85	542.42	0.54	0.57
	R2	0.335		0.09	0.60	11.91	595.45	0.60	
	R3	0.331		0.09	0.57	11.30	565.15	0.57	

## ANEXO 26: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA EL PUNTO ISOELÉCTRICO

### Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína Soluble por Tratamiento Punto Isoelectrico

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4.4	3	0.236667	X
4.6	3	0.31	X
4.8	3	0.416667	X
5	3	0.57	X
4.2	3	0.623333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
4.2 - 4.4	*	0.386667	0.0976324
4.2 - 4.6	*	0.313333	0.0976324
4.2 - 4.8	*	0.206667	0.0976324
4.2 - 5		0.0533333	0.0976324
4.4 - 4.6		-0.0733333	0.0976324
4.4 - 4.8	*	-0.18	0.0976324
4.4 - 5	*	-0.333333	0.0976324
4.6 - 4.8	*	-0.106667	0.0976324
4.6 - 5	*	-0.26	0.0976324
4.8 - 5	*	-0.153333	0.0976324

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 27: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 0.5 POR CIENTO

### Pruebas de Múltiple Rangos para EES % por pH

Método: 95.0 porcentaje LSD

pH	Casos	Media	Grupos Homogéneos
6	3	6.07	X
7	3	7.24333	X
8	3	8.40667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
6 - 7	*	-1.17333	0.502485
6 - 8	*	-2.33667	0.502485
7 - 8	*	-1.16333	0.502485

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 28: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 0.7 POR CIENTO

### Pruebas de Múltiple Rangos para EES % por pH

Método: 95.0 porcentaje LSD

pH	Casos	Media	Grupos Homogéneos
6	3	14.3233	X
7	3	18.38	X
8	3	21.3167	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
6 - 7	*	-4.05667	1.80633
6 - 8	*	-6.99333	1.80633
7 - 8	*	-2.93667	1.80633

\* indica una diferencia significativa.

**ANEXO 29: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS DE TUKEY PARA LA EES DE APT AL 1 POR CIENTO**

**Pruebas de Múltiple Rangos para EES % por pH**

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>pH</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
6	3	20.0867	X
7	3	22.35	X
8	3	30.7867	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
6 - 7	*	-2.26333	1.37157
6 - 8	*	-10.7	1.37157
7 - 8	*	-8.43667	1.37157

\* indica una diferencia significativa.

**ANEXO 30: CALCULO DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE (CAA) DEL AISLADO PROTEICO DE TARWI**

	<b>PESO TUBO (G)</b>	<b>PESO AISLADO PROTEICO (G)</b>	<b>PESO TOTAL</b>	<b>PESO FINAL (TUBO+ AISLADO PROTEICO + ACEITE RETENIDO)</b>	<b>ACEITE RETENIDO (GRAMOS)</b>	<b>CAA (G ACEITE/G AISLADO)</b>	<b>PROMEDIO CAA</b>
R1	6.154	<b>0.5251</b>	6.6791	7.6092	0.9301	<b>1.77</b>	<b>1.76</b>
R2	6.2509	<b>0.5313</b>	6.7822	7.6889	0.9067	<b>1.71</b>	
R3	6.262	<b>0.5291</b>	6.7911	7.7421	0.951	<b>1.80</b>	

**ANEXO 31: CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>CRA (G DE AGUA/ G DE AISLADO)</b>	<b>AUTOR</b>
Caupi	1.38	Butt y Batool (2010)
Guisante	1.52	Butt y Batool (2010)
Soya	5.45	Martínez <i>et al.</i> (2011)
Semillas de guayaba	1.3	Martínez <i>et al.</i> (2011)
Semillas de maracuyá	2.4	Martínez <i>et al.</i> (2011)
Garbanzo	1.47	Aguilar y Vélez (2013)
Frijol Mungo	1.12	Akaerue <i>et al.</i> (2010)
Soya	5.00	Akaerue <i>et al.</i> (2010)
Habas	3.00	Akaerue <i>et al.</i> (2010)
Sacha Inchi	5.16	Mercado (2012)

**ANEXO 32: CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>CAA (G DE ACEITE G DE AISLADO)</b>	<b>AUTOR</b>
Quinchoncho	1.68	Butt y Batool (2010)
Caupí	1.45	Butt y Batool (2010)
Soya	1.13	Butt y Batool (2010)
Guisante	1.40	Butt y Batool (2010)
Trigo	1.61	Hassan <i>et al.</i> (2010)
Maní	1.02	Eltayeb <i>et al.</i> (2011)
Frejol mungo	1.02	Akaerue <i>et al.</i> (2010)
Soya	0.85	Mercado (2012)
Sacha Inchi	1.39	Mercado (2012)
Semillas de maracuyá	0.81	Martínez <i>et al.</i> (2011)

**ANEXO 33: CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE ESPUMA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>EES %</b>	<b>AUTOR</b>
Quinchoncho (60 min)	71	Butt y Batool (2010)
Caupí (60 min)	65	Butt y Batool (2010)
Frijol mungo (60 min)	58	Butt y Batool (2010)
Guisante (60 min)	79	Butt y Batool (2010)
Semillas de maracuyá	47	Martínez <i>et al.</i> (2011)
Maní	50.1	Eltayeb <i>et al.</i> (2011)
Soya (120 min)	13.37	Mercado (2012)
Sacha Inchi (120 min)	16.67	Mercado (2012)

**ANEXO 34: ESTABILIDAD DE ESPUMA PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>CFE %</b>	<b>AUTOR</b>
Quichoncho (3%)	68	Butt y Batool (2010)
Caupí (3%)	69	Butt y Batool (2010)
Soya	45.17	Mercado (2012)
Sacha Inchi	54.67	Mercado (2012)
Semillas de maracuyá	98.8	Martínez <i>et al.</i> (2011)
Maní	219	Eltayeb <i>et al.</i> (2011)

**ANEXO 35: CAPACIDAD DE GELIFICACIÓN PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>CG (%)</b>	<b>AUTOR</b>
Sacha Inchi	15	Mercado (2012)
Soya	10	Mercado (2012)
Frijol mungo	16	Butt y Batool (2010)
Guisante	18	Butt y Batool (2010)
Quinchoncho	14	Butt y Batool (2010)
Caupí	16	Butt y Batool (2010)
Algas	2.5	Benelhadj <i>et al.</i> (2016)
Maní	18	Eltayeb <i>et al.</i> (2011)

**ANEXO 36: CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE EMULSIÓN PARA OTROS AISLADOS PROTEICOS DE FUENTE VEGETAL**

<b>AISLADO PROTEICO</b>	<b>CE (%)</b>	<b>EE (%)</b>	<b>AUTOR</b>
Sacha Inchi	59.11	16.67	Mercado (2012)
Soya	55.81	13.37	Mercado (2012)
Frijol mungo	41.1	21	Butt y Batool (2010)
Guisante	45.5	43.19	Butt y Batool (2010)
Quinchoncho	49.5	83.30	Butt y Batool (2010)
Caupí	47.5	52.2	Butt y Batool (2010)
Trigo	60.62	57.95	Hassan <i>et al.</i> (2010)