

Efecto de la temperatura y tiempo de hidrólisis con NaOH en la obtención de péptidos solubles de harina de semillas residuales de tarwi (*Lupinus mutabilis*) variedad criolla.

Effect of the temperature and time of hydrolysis with NaOH in obtaining soluble peptides from residual tarwi seed flour (*Lupinus mutabilis*) creole variety.

Recibido: 15 noviembre 2020 | Aceptado: 28 de diciembre 2020

Ávila Yupanqui Leydi Rene¹, Quispe-Ricalde María Antonieta ^{2*}, Vegas Niño Rodolfo Moisés ^{1*}

¹ *Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Trujillo (UNT).*

² *Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC).*

*Autor de correspondencia. Vegas Niño Rodolfo Moisés, rvegas@unitru.edu.pe. Quispe-Ricalde María Antonieta, antonieta.quispe@unsaac.edu.pe.

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de hidrólisis con NaOH en la obtención de péptidos solubles de harina de semillas de *Lupinus mutabilis*, variedad criolla. La harina fue previamente deslupinizada, desgrasada e hidrolizada parcialmente con α -amilasa. Se utilizó el método de superficie de respuesta y se empleó un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR), para dos factores: temperatura y tiempo. La caracterización inicial de la harina deslupinizada mostró un alto contenido de proteína (43.53 ± 0.04 g/ 100 g), lípidos (25.41 ± 0.03 g/100 g) y cenizas (1.40 ± 0.07 g /100 g). La hidrólisis alcalina con NaOH se realizó a pH 10, relación harina/solvente 1/25, tiempo entre 10 a 90 minutos y temperatura entre 25 °C – 50 °C. La cuantificación de los péptidos se realizó por el método de Lowry. Los resultados obtenidos indicaron que la mayor concentración de péptidos solubles fue de 7.204 mg/ml que presentó el tratamiento a 46.3 °C por 78 minutos. El modelo matemático que permite predecir la concentración de péptidos solubles es: $Y = -7.8711 + 0.5574 * X_1 - 0.0084 * X_1^2 - 0.0008 * X_2^2 + 0.0032 * X_1 * X_2$; donde Y es la concentración de péptidos solubles en mg/ml, X_1 la temperatura (°C) y X_2 : tiempo (minutos). El análisis estadístico mostró que existe un alto valor de significancia de las

variables independientes (tiempo y temperatura) con respecto a la variable respuesta (péptidos solubles) ($p < 0.05$).

Palabras clave: lupinus mutabilis Sweet, var. criolla, hidrólisis alcalina, péptidos solubles.

Summary

The present investigation had as objective to evaluate the effect of the temperature and time of hydrolysis with NaOH in obtaining soluble peptides from the flour of seeds of *Lupinus mutabilis*, creole variety. The flour was previously deluphuptized, defatted and partially hydrolyzed with α -amylase (57° C, 208 min, pH: 5.5 and 0.01 g enzyme / kg substrate). The response surface method was used and a Rotable Central Compound Design (DCCR) was used, for two factors: Temperature and time. The initial characterization of the tarless meal showed a high content of protein (43.53 ± 0.04 g /100 g), lipids (25.41 ± 0.03 g /100 g) and ash (1.40 ± 0.07 g/100 g). The alkaline hydrolysis with NaOH was performed at pH 10, 1/25 flour: solvent ratio, time between 10 to 90 minutes and temperature between 25 ° C - 50 ° C. The quantification of the peptides was carried out by the Lowry method. The results obtained indicated that the highest concentration of soluble peptides was 7,204 mg / ml, which presented treatment at 46.3°C for 78 minutes. The mathematical model that allows predicting the concentration of soluble peptides is: $Y = -7.8711 + 0.5574*X_1 - 0.0084*X_1^2 - 0.0008*X_2^2 + 0.0032*X_1*X_2$; where Y is the concentration of soluble peptides in mg / mL, X_1 the temperature (° C) and X_2 : time (minutes). Statistical analysis showed that there is a high significance value of the independent variables (time and temperature) with respect to the response variable (soluble peptides) ($p < 0.05$).

Key words: Lupinus mutabilis Sweet, var. criolla, alkaline hydrolysis, soluble peptide.

Introducción

Lupinus mutabilis Sweet es una especie perteneciente a la familia de leguminosas, cultivada principalmente en Perú, Ecuador y Bolivia y se les conoce como Tarwi o Lupino andino (Blanco, 1982). En comparación con otras leguminosas, el tarwi posee mayor porcentaje protéico y es especialmente rico en aminoácidos como lisina (Popenoe y King 1989, Kay 1985). El porcentaje de proteína en el grano de tarwi sin desamargar viene hacer de un 42% y se logra una mayor concentración de proteica eliminando alcaloides por medio de un proceso de desamargado del grano, obteniendo hasta un valor de 51% expresado en base seca (Mujica *et al.*, 2001 y Rodríguez, 2009). La importancia de estas semillas además de las proteínas y lípidos para la nutrición y mantenimiento de la salud es su potencial como fuente de nuevos compuestos bioactivos capaces de ejercer distintas actividades biológicas beneficiosas para la salud tras su liberación en

el organismo (Duranti, 2006). Asimismo, constituye una fuente para la obtención de aislados proteicos y compuestos bioactivos para la industria de alimentos funcionales y nutracéuticos (Jacobsen y Mujica, 2006; Chirinos, 2015). Las propiedades funcionales de las proteínas aisladas, sea de manera total o fraccionada, están relacionadas directamente con sus propiedades intrínsecas, es decir, depende de la composición aminoacídica, estructura secundaria, tamaño molecular, integridad proteica, grado de hidrofobicidad y flexibilidad. Tales propiedades suelen estar sujetas a modificaciones por distintos factores como temperatura, pH, constante dieléctrica, grado de pureza del aislado y la interacción con otras moléculas (Pinciroli, 2010).

El trabajo se centra en los siguientes puntos: Determinar las características fisicoquímicas de la harina de semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet variedad criolla. Determinar el rendimiento de desgrasado de la harina con etanol de 96°C y Determinar la superficie de respuesta a la temperatura y tiempo óptimo de hidrólisis con NaOH en la obtención de péptidos solubles a partir de harina de las semillas.

Materiales y Métodos

Material Biológico

Semillas de *L. mutabilis* Sweet variedad criolla desamargada.

Obtención de Harina

Se trituran en una licuadora semillas desamargadas y sin cáscara de *L. mutabilis* Sweet var. criolla en una proporción 1:1 semillas: agua destilada hasta generar una pasta. Posteriormente la pasta se secó a una temperatura de 40°C por 48 horas, procediendo a la transformación en harina con la ayuda de un mortero y luego tamizado con una malla con abertura inferior a 1 mm para lograr una mayor uniformidad en tamaño de partículas de la harina.

Proceso de Desgrasado de la Harina

Se procedió a desgrasar la harina con etanol de 96° GL en un equipo Soxhlet por 24 horas a reflujo constante, después se realizó el secado a 40 °C por 48 horas para eliminar el etanol residual y obtener la harina desgrasada que se envasó de forma hermética para su uso posterior.

Análisis Fisicoquímico de la Harina

Para la determinación de las características fisicoquímicas, se determinó el contenido de humedad y sólidos totales (Método ISO 638:2008), el contenido en cenizas (Método ISO 776:1982), el contenido de lípidos libres (Método AOAC, 1995), el contenido de proteína total (Método Mikrokjendahl) y la fibra cruda (Método AOAC, 1990).

Obtención de Péptidos Solubles

Los péptidos solubles se obtienen a partir de la harina desgrasada con un tratamiento previo con α -amilasa fungal (*Aspergillus oryzae*) a 57°C, 208 minutos y pH 5.5. La proporción 0.5:50 g/kg enzima:sustrato fue de 0.5:50 g/kg (Bailón 2018). Luego

se procedió a filtrar para eliminar los azúcares reductores del sobrenadante y la pasta obtenida se seca a 40 °C por 48 horas, para posteriormente dispersarlo en una solución de NaOH a pH 10 en una proporción p/p 1:25, y una velocidad de rotación de 100 rpm. Los valores de tiempo y temperatura están indicados en el diseño experimental. Transcurrido el tiempo de hidrólisis, cada uno de los tratamientos fueron centrifugados a 4500 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente y finalmente se cuantificó los péptidos solubles en el sobrenadante.

Determinación de Péptidos Solubles

Para cuantificar los péptidos solubles de las proteínas posterior a la hidrólisis con hidróxido de sodio, se siguió la técnica descrita por Lowry *et al.* (1951). Se utilizó suero albumina bovina 2mg/ul como patrón estándar de proteínas.

Diseño Experimental

Se estableció un diseño compuesto central rotatable (DCCR) mediante un planeamiento factorial completo 2^k (2^2), incluidos 4 puntos axiales y 3 puntos centrales, con un total de 11 ensayos (T1: 28.7°C, 21.7 min; T2: 46.3°C, 21.7min; T3: 28.7°C, 78.3 min; T4: 46.3°C, 78.3 min; T5: 25°C, 50 min; T6: 50°C, 50 min, T7: 37.5°C, 10 min; T8: 37.5°C, 90 min; T9: 37.5°C, 50 min; T10: 37.5°C; 50 min; T11: 37.5°C, 50 min). K, representa el número de variables independientes (K=2) tiempo y temperatura. Se utilizó el valor de α de 1.4142 según el número de variables de acuerdo $\alpha = (2K)^{1/4}$ (Montgomery 2004).

Análisis Estadístico

Se utilizó el software STATISTICA 7.0, con los coeficientes de regresión se identificaron los parámetros significativos y se elaboró un modelo matemático polinómico codificado (Montgomery, 2004):

$$Y = b_0 + \sum_{j=1}^K b_j X_j + \sum_{j=1}^k b_{ij} X_i X_j + \sum_{j=1}^K b_j X_j^2 \dots \dots \dots u \neq j$$

Donde b_0, b_j = Coeficientes de regresión; $i = 1, 2, 3, 4$; $j = 1, 2, 3, 4$

Luego se realizó un análisis de varianza ANVA para validar el modelo estadístico para la respuesta investigada, procediendo a verificar si las variables son significativas ($p < 0.05$ y R^2). Dicha significancia del modelo y valores $R^2 \approx 1$ indican la concordancia entre los valores experimentales y previstos para el modelo.

Resultados y Discusión

Caracterización Físicoquímica de Harina de Tarwi Deslupinizada

En la Tabla 1 se reporta la composición físicoquímica de harina deslupinizada de semillas de *L. mutabilis* Sweet variedad criolla (Tarwi). La concentración de proteína fue

de 43.53g/100g, valor que se encuentra dentro del rango reportado para *Lupinus*, que es desde 40g/100g hasta 49.6g/100g (Ninaquispe 2013, Garay 2015, Arteaga & Silva 2015, Collazos 1993, Sánchez 2011, Navia 2019, Briceño 2017, Reyes 2017). La variación de la concentración de proteínas puede ser atribuida a muchos factores como el tipo de suelo, clima y variabilidad genética (Rodríguez 2009).

El contenido de humedad de la harina deslupinizada de Tarwi fue de 4.94 %, valor inferior a lo descrito para este tipo de harina que va del orden del 6.48% al 7.7% (Garay 2015, Navia 2019, Sánchez 2011 y Vegas 2017). La determinación de cenizas, en un indicador general de la cantidad de minerales que existen en el grano de Tarwi, como calcio, magnesio u otros y en la muestra tratada fue de 1.40g/100g. En cuanto a la determinación de fibra, se reporta valores de 2.03 % de fibra cruda, que se encuentra muy cercano a 2.20% descrito por Collazos (1993). El contenido de fibra varía de forma importante desde 0.96% hasta 6.0% en su valor más alto (Navia 2019, Ninaquispe 2013 y Sánchez 2011). Se determinó la densidad real y aparente, siendo estos valores de 1.3 g/ml y 0.51 g/ml respectivamente. Al respecto previamente se reportaron valores de 1.116 g/ml y 0.449 g/ml para densidad real y aparente respectivamente (Vegas 2017).

Tabla 1

*Caracterización fisicoquímica de harina deslupinizada de semillas de Tarwi (*Lupinus mutabilis*) variedad criolla.*

Componente	Unidad	Valores
Humedad	%	4.94 ± 0.06
Proteína *	g/100 g	43.53 ± 0.04
Lípidos *	g/100 g	25.41 ± 0.03
Cenizas *	g/100 g	1.40 ± 0.07
Fibra cruda*	%	2.03 ± 0.05
Densidad real	g/ml	1.30 ± 0.03
Densidad aparente	g/ml	0.51 ± 0.01

(*): Expresado en base seca

Determinación del Rendimiento de Desgrasado de Harina de Tarwi Deslupinizada

El proceso de desgrasado se realizó con etanol a 96° GL teniendo un rendimiento, expresado como lípidos libres. La determinación del rendimiento en la extracción de lípidos libres fue calculada mediante la relación del peso de la harina sin desgrasar con respecto de la harina desgrasada.

En este trabajo experimental la concentración de lípidos fue de 25.41 g/100 g, valor incluido en el rango de lo reportado que va desde 25.13 g/100g hasta 28.02g/100g

(Briceño 2017, Sánchez 2011, Arteaga y Silva 2015, Reyes 2017 y Ninaquispe 2013). La variabilidad en la concentración de lípidos en la semilla de Tarwi se debe al tipo de suelo u otros factores de cosecha los cuales afectan al grano.

La extracción de lípidos es un proceso importante previa a la hidrólisis enzimática con α -amilasa, pues los carbohidratos se encuentran más accesibles para su hidrólisis enzimática y presenta la mayor generación de azúcares reductores, que puede ser separada por medio de un filtrado (Bailón 2018). Hidrólisis Alcalina con Hidróxido de Sodio (NaOH) de Harina de Tarwi El proceso de hidrólisis en medio alcalino (NaOH) a la harina de tarwi con alto contenido de proteína después de una hidrólisis con α -amilasa, se realizó en el intervalo de temperatura de 25 – 50 °C y tiempo de 10– 90 minutos con el propósito de obtener péptidos solubles

En la Tabla 2, se reporta la obtención de péptidos solubles con una hidrólisis alcalina (NaOH) obteniendo valores entre 2.57 mg de péptidos/ml hasta 7.204 mg de péptidos/ml, siendo el valor más elevado el obtenido a una temperatura de 46.3 °C por 78.3 minutos a pH 10. La determinación de péptidos solubles fue realizada por el método de Lowry, el cual determina las unidades de tirosina que se encuentran libres al reaccionar con una solución básica. Cabe mencionar que la hidrólisis alcalina rompe todo tipo de enlaces además de los peptídicos, provocando que la proteína se convierta en péptidos solubles o aminoácidos, además de no ser selectiva a diferencia de las enzimas proteolíticas.

Además se presenta los valores de sólidos solubles, sólidos totales y pH de la solución sobrenadante después de la hidrólisis con NaOH, obteniendo el máximo valor de sólidos solubles (°Brix) y sólidos totales (%) con el tratamiento ocho (37.5 °C y 90 min), obteniendo valores de 0.7 °Brix y 0.97 % de sólidos totales, deduciendo que hay una fracción de sólidos los cuales no son solubles y se encuentran en el sobrenadante. También se determinó su pH al final de la hidrólisis obteniendo un valor de 9, siendo este indicador que se ha generado un rompimiento de enlaces.

Tabla 2

Cuantificación de péptidos solubles, sólidos solubles, sólidos totales y pH de la solución sobrenadante de la hidrólisis de harina de Tarwi deslupinizada y desgrasada con NaOH.

Ensayo	X ₁ : temperatura (°C)	X ₂ : Tiempo (minutos)	Y: Péptidos solubles (mg/mL)	Sólidos Solubles (° Brix)(*)	Sólidos Totales (%)(**)	pH (Harina hidrolizada NaOH)
1	28.7	21.7	2.802	0.3	0.312 ± 0.078	6.0
2	46.3	21.7	2.982	0.3	0.482 ±0.012	6.5
3	28.7	78.3	3.802	0.3	0.454 ±0.014	7.0
4	46.3	78.3	7.204	0.6	1.360 ±0.076	7.0
5	25.0	50.0	3.263	0.1	0.580 ±0.002	6.0
6	50.0	50.0	5.255	0.4	0.856 ±0.116	6.5
7	37.5	10.0	2.577	0.4	0.757 ±0.149	7.0
8	37.5	90.0	5.850	0.7	0.975 ±0.031	9.0
9	37.5	50.0	5.561	0.6	0.608 ± 0.022	9.0
10	37.5	50.0	5.551	0.7	0.736 ±0.140	9.0
11	37.5	50.0	5.533	0.6	0.692 ±0.016	8.0

(*): Medido con brixómetro, (**): Medido en estufa a 105 °C por 48 horas.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANVA) a las variables independientes como se muestra en la Tabla 3, en la obtención de péptidos solubles a partir de semillas de Tarwi con hidrólisis alcalina (NaOH), en donde la temperatura (°C) lineal y cuadrática son significativas al encontrarse con valor de $p < 0.05$, de igual modo el tiempo (minutos) de forma cuadrática y lineal son significativas. Se evaluó para un nivel de significancia menor a 0.05, que la obtención de péptidos solubles es afectada por la variación de temperatura y tiempo de hidrólisis.

Tabla 3

Análisis de varianza (ANVA) de las variables independientes en la obtención de péptidos solubles a partir de harina de semillas de Tarwi deslupinizada y desgrasada.

Factor	SS	df	MS	F	P
(1)Temperatura (°C)(L)	5.11682	1	5.11682	212.2587	0.000028
Temperatura (°C)(Q)	2.41683	1	2.41683	100.2563	0.000170
(2) Tiempo (minutos)(L)	12.13017	1	12.13017	503.1901	0.000003
Tiempo (minutos)(Q)	2.58788	1	2.58788	107.3518	0.000144
1L by 2L	2.59557	1	2.59557	107.6709	0.000143
Error	0.12053	5	0.02411		
Total SS	23.83133	10			

En la Tabla 4 se realizó un análisis de los coeficientes de regresión para evaluar su incidencia en el modelo matemático con el propósito de predecir la concentración de péptidos solubles. En ella se observa que la temperatura en función lineal y cuadrática; así como el tiempo en función cuadrática y sus respectivas interacciones presentan un efecto significativo ($p < 0.05$).

Tabla 4

Coefficientes de regresión en la obtención de péptidos solubles por acción alcalina (NaOH) sobre la harina de Tarwi deslupinizada y desgrasada.

Factor	Coefficientes de Regresión	P
Mean/Interc.	-7.87112	0.002058
(1)Temperatura (°C)(L)	0.55741	0.000353
Temperatura (°C)(Q)	-0.00837	0.000170
(2)Tiempo (minutos)(L)	0.00733	0.631538
Tiempo (minutos)(Q)	-0.00085	0.000144
1L by 2L	0.00322	0.000143

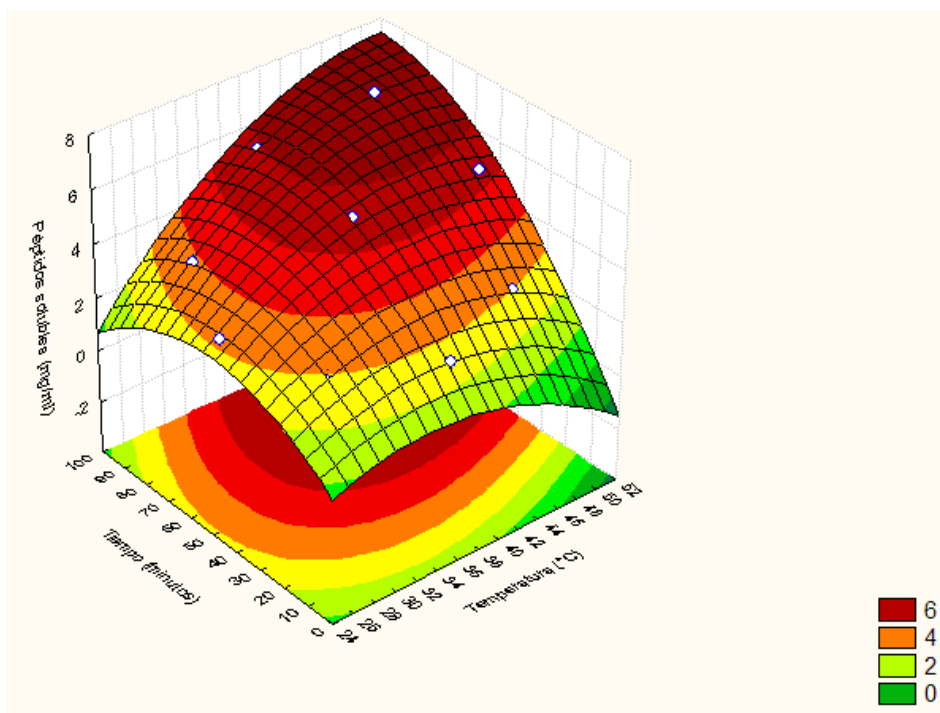
Con la determinación de coeficientes de regresión expuestos en la Tabla 11, se obtuvo el modelo matemático que permite predecir la obtención de péptidos solubles: $Y = -7.8711 + 0.5574 * X_1 - 0.0084 * X_1^2 - 0.0008 * X_2^2 + 0.0032 * X_1 * X_2$ ($R^2 = 99.494 \%$) ($R^2_{ajustado} = 98.988 \%$)

Donde:

Y = Péptidos solubles (mg BSA/mL), X_1 = Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y X_2 = Tiempo (minutos)
Con la ecuación anteriormente descrita, se construyó una superficie de respuesta (Figura 1) y una gráfica de contorno (Figura 2) para visualizar la zona de mayor concentración de péptidos solubles.

Figura 1

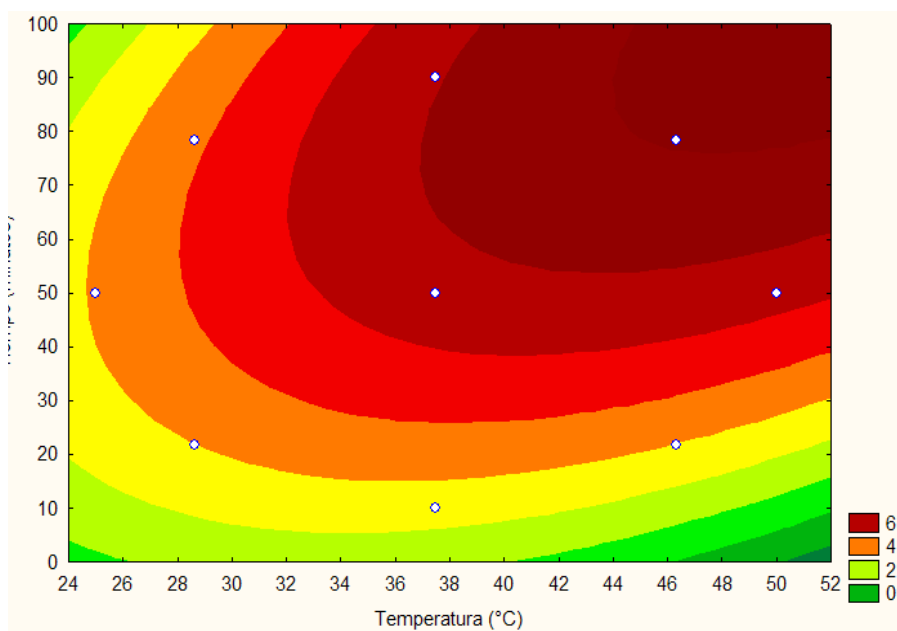
Superficie de respuesta en la obtención de péptidos solubles por acción de hidrólisis con NaOH a partir de semillas de tarwi.



La mayor concentración de péptidos solubles de 7.204 mg/ml de solución se obtuvo con los parámetros de temperatura y tiempo de 46.3 $^{\circ}\text{C}$ y 78.3 minutos respectivamente. Urrutia en el año 2010 realizó un aislado proteico a partir *L. mutabilis* utilizando HCl 0,1 N y NaOH 0,1 N. Las mejores condiciones de extracción se realizaron en una relación harina:solvente 1:28, a pH 9,3 y temperatura de 43 $^{\circ}\text{C}$. Por otro lado, Laurent (2016) en la extracción de concentrado protéico de las variedades de *L. mutabilis* sweet, Yunguyo I y Negra de Sacacatani, obtuvo parámetros óptimos de extracción a 40 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura y pH 4,5, consiguiendo 73.45 % \pm 0.230 y 70.20% \pm 0.065 de proteína respectivamente.

Figura 2

*Gráfica de contornos en la obtención de péptidos solubles por hidrólisis con NaOH sobre la harina deslupinizada y desgrasada de semillas de *L. mutabilis*.*



En el diagrama de Pareto (Figura 3) se visualiza, el efecto de las variables independientes (temperatura y tiempo de hidrólisis) sobre la variable dependiente (concentración de péptidos solubles) en la cual el tiempo y la temperatura en función lineal son las variables que tienen un mayor efecto sobre la variable respuesta; sin embargo, la interacción, el tiempo y la temperatura en función cuadrática ejercen un efecto con menor intensidad, en la obtención de péptidos solubles en una hidrólisis alcalina con NaOH. De igual manera, el efecto de las variables según su valor de “p”, fue determinado en la Tabla 5, corroborándose lo anteriormente dicho en donde todas las variables tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta, para un nivel de confianza del 95 %.

Figura 3

Diagrama de Pareto en la hidrólisis con NaOH en la obtención de péptidos solubles a partir de harina de tarwi.

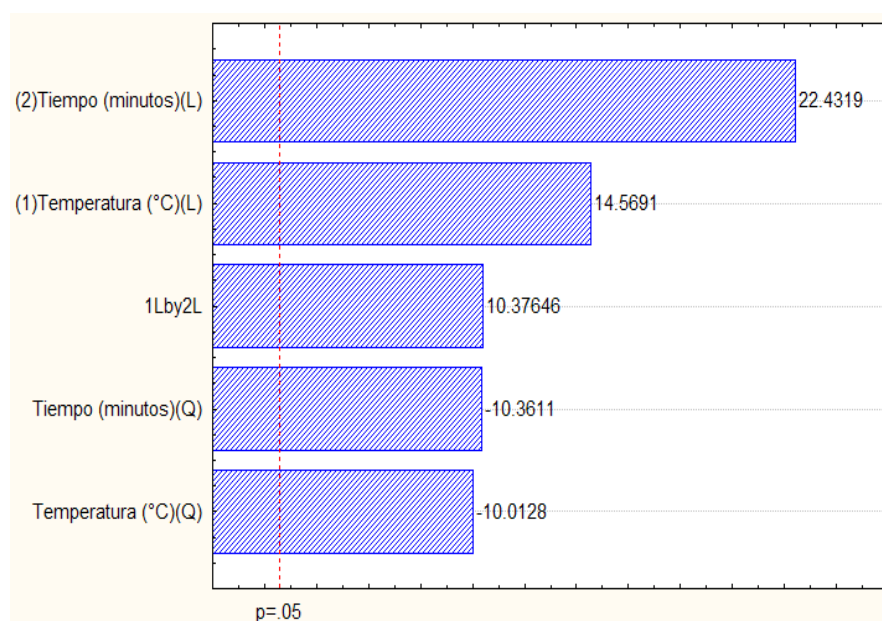


Tabla 5

Efecto de las variables independientes para la obtención de péptidos solubles por hidrólisis con NaOH en harina de tarwi.

Factor	Efecto	<i>p</i>
Mean/Interc.	5.54830	0.000000
(1)Temperatura (°C)(L)	1.59951	0.000028
Temperatura (°C)(Q)	-1.30842	0.000170
(2)Tiempo (minutos)(L)	2.46275	0.000003
Tiempo (minutos)(Q)	-1.35393	0.000144
1L by 2L	1.61108	0.000143

Mediante el diseño estadístico seleccionado se obtuvo un modelo matemático en el que las variables temperatura y tiempo permiten predecir la concentración de

péptidos solubles, cuyos valores fueron comparados con tratamientos experimentales con el propósito de obtener el error medio relativo (Tabla 6). Se determinó un error medio relativo de $9.87 \pm 0.47 \%$.

Tabla 6

Determinación del porcentaje de error entre el modelo matemático y el tratamiento experimental.

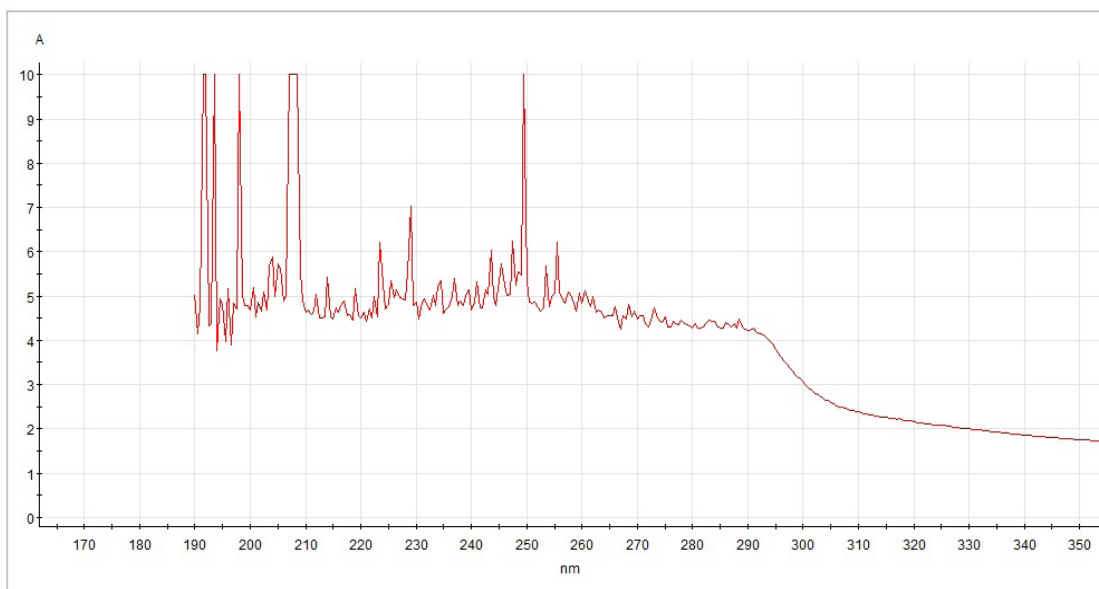
N° Tratamiento	X ₁ : Temperatura (°C)	X ₂ : Tiempo (minutos)	Y: Péptidos Solubles (mg/ml) (Experimental)	Y: Péptidos Solubles (mg/ml) (Modelo Matemático)	Porcentaje de Error(%)
1	50	6.70	6.701	7.369	9.982
2	32	4.52	4.527	4.975	9.901
3	26	2.23	2.228	2.444	9.732

En la Figura 4 se realizó un barrido espectrofotométrico de la fracción de sobrenadante del tratamiento de máxima concentración de péptidos solubles (46.3°C y 78.3 min), donde se observa sobresaltos de picos en la longitud de onda de 190 a 250 nm. Al respecto Scopes (1974) determinó concentración de proteínas a 205 nm por lo que se puede inferir la presencia de dichas biomoléculas en la fracción acuosa. Waddell (1952) al respecto muestra la absorción de un péptido en el rango de longitud de onda de 200 a 300nm y afirma que las proteínas pueden absorber tanto en las región UV más cercana a la región visible (250 – 400 nm) asi como en la región UV más alejada de la región visible (190 – 250 nm), y según este rango de longitudes, los cromóforos que se absorben en la región UV cercana son los aminoácidos aromáticos, el triptófano, la tirosina, la fenilalanina y el enlace disulfuro y los que absorben la radiación UV lejana son las proteínas y péptidos que carecen de unidades aromáticas y enlaces disulfuro.

Por otra parte, Landeros (2018) realizó la caracterización de péptidos bioactivos a partir de frijol por espectroscopia, donde el espectro de absorción muestra que a 280 nm ocurre la mayor absorción y hay presencia de péptidos con cadenas laterales aromáticas por la presencia de tirosina, triptófano y fenilalanina, que muestran sus valores de absorbancia entre 240-300 nm.

Figura 4

Barrido espectrofotométrico de la fracción sobrenadante del tratamiento con mayor presencia de péptidos.



Conclusiones

Las propiedades fisicoquímicas de la harina deslupinizada de semillas de *L. mutabilis* Sweet variedad criolla son: 4.94% de humedad, 2.03% de fibra cruda, 1.40 g/100g de ceniza, 1.30 g/ml de densidad absoluta y 0.51 g/ml de densidad aparente. La harina deslupinizada presentó un contenido de lípidos de 25.41 g/100g y proteína total de 43.53 g/100g. La hidrólisis alcalina con NaOH sobre el enriquecido proteico de harina a 46.3 °C por 78.3 minutos a pH 10, presentó la mayor concentración de péptidos solubles de 7.204 mg/ml. En contraparte, el tratamiento a 37.5 °C por 10 minutos se obtuvo la menor concentración de péptidos solubles 2.577 mg/ml. Las variables de hidrólisis como tiempo y temperatura, influyeron significativamente en la obtención de péptidos solubles mediante hidrólisis alcalina con NaOH ($p < 0,05$). Se logró determinar un modelo matemático para determinar la concentración de péptidos solubles en hidrólisis con NaOH, quedando establecida como: $Y = -7.8711 + 0.5574 * X_1 - 0.0084 * X_1^2 - 0.0008 * X_2^2 + 0.0032 * X_1 * X_2$ ($R^2 = 99.494 \%$) ($R^2_{\text{ajustado}} = 98.988 \%$) Donde Y es la concentración de péptidos solubles (mg BSA/mL), X_1 la Temperatura (°C) y X_2 el Tiempo (minutos).

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses financieros ni personales que puedan influir inapropiadamente en el desarrollo de este artículo.

Referencias

- Agyei, D.; Ongkudon, C.; Wei, C.; Chan, A. y Danquah, M. (2016). Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides. *Food and Bioprocess Processing* 98: 244 - 256. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.003>
- Anchorena, C. (1999). Determinación de los ácidos grasos del extracto etéreo de tarwi (*Lupinus mutabilis*) y estudio de su conservación en almacenamiento. Tesis para optar por el Título de Ingeniero de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima. Perú.
- AOAC. (1990). Association Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. 15 a Ed. Washington D.C.
- AOAC. (1995). Association Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. Washington D.C.
- Arihara, K. y Ohata, M. (2006). Functional properties of bioactive peptides derived from meat proteins. *In* Advanced Technologies for Meat Processing. Toldrá, F. New York, United States of America; Springer.
- Bailón, L. (2018). Efecto de la temperatura y tiempo de hidrólisis de alfa – amilasa en la obtención de azúcares reductores de harina de semillas residuales de tarwi (*Lupinus mutabilis*) variedad criolla. Proyecto de investigación para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo. Perú (en vía de sustentación).
- Benitez, R.; Ibarz, A. y Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42 (2). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53542208>.
- Blanco, O. (1982). Genetic variability of tarwi (*Lupinus mutabilis*). *Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines*, pág.33-49.
- Briceño, M. (2017). Efecto de la temperatura en el valor de monocapa de tres tipos de harina de tarwi (*Lupinus mutabilis*) variedad criolla mediante la isoterma de GAB. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Chirinos, M. (2015). Andean Lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*) a plant with nutraceutical and medicinal potential. *Revista Bio Ciencias*, 3 (3), 163 – 172.
- Daliri, E.; Lee, B. y Oh, D. (2017). Current trends and perspectives on bioactive peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 12:1-12. DOI: 10.1080/10408398.2017.1319795

- Dubois, M.; Gilles, K.; Hamilton, J.; Robers, P. y Smith, F. (1956). Colorimetric method for the determination of sugars and related substance. *Division of Biochemistry*. University of Minnesota. Minnesota – United States of America. P. 350 – 6.
- FAO. Codex Alimentarius. (2007). Cereales, Legumbres, Leguminosas y productos proteínicos Vegetales. Roma: OMS/FAO.
- Gross, R. (1982). El cultivo y la utilización del tarwi, (*Lupinus mutabilis sweet*). Agencia Alemana de Cooperación Técnica (GTZ), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma. 236p.
- Guadix, A.; Guadix, E.; Páez, M.; González, P. y Camacho, F. (2000). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas, *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 79-89.
- ISO 638. (2008). International Organization for Standardization. Method for determination of dry matter content.
- ISO 776. (1982). International Organization for Standardization. Method for determination of acid-insoluble ash of pulp.
- Jacobsen, E. y Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de los Andes*. Centrales Editores: M. Moraes R., B. Ollgaard, L. P. Kvist, F. Borchsenius & H. Balslev Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Pp. 458-482.
- Landeros, S.; Regalado, P.; Aguayo, R. y Delgadillo, R. (2018). Extracción y caracterización de péptidos bioactivos a partir de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en su variedad Pinto Saltillo. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3: 48-52.
- Laurente, Y. (2016). Obtención del concentrado protéico y determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). Tesis para optar el Título profesional de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú.
- Lowry, O. Rosebrough, N. Farr, L. y Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *The Journal of Biological Chemistry*. 193:265–75.
- Moller, N.; Scholz-Ahrens, K.; Roos, N. y Schrezenmeir, J. (2008). Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *European Journal of Nutrition* 47:171–182.
- Montgomery, D. (2004). Diseño y Análisis de Experimentos. 2da Edición. Limusa Wiley. México.
- Navia, N.; Nina, G.; Mena, E. y Salcedo, L. (2019). Hidrólisis enzimática en harina de

quinua y tarwi por efecto de α -amilasa. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 17(1), 64 – 73.

- Ninaquispe, V. (2013). Secado del tarwi (*Lupinus mutabilis*) por combinación de microondas y aire caliente. *Agroindustria Science*. Universidad Nacional de Trujillo. P. 147 – 54.
- Panyam, D. y Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science and Technology*, 7:120-125.
- Piornos, J.; Burgos, C.; Oruga, T.; Morales, E.; Rubilar, M.; Maureira, I. y Salvo, H. (2015). Functional and physicochemical properties of a protein isolate from AluProt- CGNA: A novel protein- rich lupin variety (*Lupinus luteus*). *Food Research International*, 76 (Part 3), 719-724.
- Sánchez, M. (2011). Biodisponibilidad del zinc en el tarwi (*Lupinus mutabilis*). Facultad de Medicina de UNMSM -E.P.G.
- Schoeneberger, H.; Gross, R.; Cremer, H. y Elmadfa, I. (1982). Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *Journal of Nutrition*, 112(1), 70 - 76.
- Soral-Smietana, M.; Swigon, A.; Amarowicz, R. y Sijtsma, L. (1998). The solubility of trypsin pea protein hydrolysates. *Nahrung*, 42:217-218.
- Sosa, C. (2000). Influencia de dos métodos de extracción de un aislado proteico de lupino (*L. mutabilis*) en sus propiedades funcionales. Tesis para optar por el grado de Magister. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima-Perú.
- Urrutia, W. (2010). Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*). Tesis para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay – Perú.
- Vegas, R. (2016). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento de la pasta desamargada de tarwi (*Lupinus mutabilis*) variedad criolla sobre los parámetros fisicoquímicos y recuento de hongos mesófilos. Proyecto de investigación código 35861604108]. Universidad Nacional de Trujillo.
- Vegas, R.; Zavaleta, A. y Vegas, C. (2017). Efecto de la temperatura sobre la cinética de secado y el color de la pasta desgrasada de las semillas de *Lupinus mutabilis* variedad criolla. *Ciencia para el Desarrollo*, 20 (1): 39-45.
- Villacreces, N. (2011). Evaluación del procesamiento artesanal del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) sobre el consumo de agua, tiempo empleado y la calidad nutricional y microbiológica. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Alimentos. Universidad San Francisco de Quito. Ecuador.

Vioque, J.; Sánchez-Vioque, R.; Clemente, A.; Pedroche, J. y Millán, F. (2000). Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77:156.163.

Waddell, W. (1956). A simple UV spectrophotometric method for the determination of protein. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 48, 311–314.