

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



---

INFLUENCIA DEL pH EN LA EXTRACCIÓN DE AISLADO PROTEICO DE QUINUA  
(*Chenopodium quínoa Willd*) DE LAS VARIEDADES BLANCA JUNÍN Y ROSADA JUNÍN

---

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TESISTA:** Bach. BARRIAL LUJAN, Abel Isaías.

**ASESOR:** Ing. TAIPE PARDO, Fredy.

**CO- ASESOR:** Ing. MSc. LIGARDA SAMANEZ, Carlos Alberto.

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2014**

**TESIS FINANCIADO POR LA DIRECCION DE INVESTIGACION DE LA UNAJMA**

## DEDICATORIA

*A Dios quien en su infinita misericordia me concedió la vida y me guía por buen camino, quien siempre está allí en todos mis momentos de angustia y alegría dándome las fuerzas para alcanzar lo que queda por delante y esperando con brazos abiertos para una gran bendición*

*A mis padres. Herminio y María Carmen, que durante mi formación profesional me ayudaron para lograr mis metas y a quienes honro y aprecio.*

BARRIAL LUJAN A.

## PRESENTACIÓN

El presente trabajo de investigación experimental se desarrolló para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, el informe contempla la evaluación del rendimiento en la extracción de aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de la variedad blanca Junín y variedad rosada Junín, análisis del perfil de aminoácidos y determinación de las propiedades tecnofuncionales (PTF) como la capacidad de retención de agua (CRA), capacidad de Emulsificación (CE), Capacidad de formación de espuma (CFE), los datos se analizan con el estadístico DBCA (diseño de bloques completos al azar) seguido de comparaciones múltiples LSD (least significant difference) ( $\alpha = 0.05$ ) con software statgraphics centurión XVI.II y minitab 15.

La investigación tiene como objetivo general evaluar la influencia de pH alcalino con niveles de (8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 y 10,5) y pH ácido de precipitación con niveles de (3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 y 5,5) en la extracción del aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de la variedad blanca Junín y variedad rosada Junín. Las muestras fueron recolectadas del Centro Poblado de Cascabamba del Distrito de Santa María de Chicmo y Provincia de Andahuaylas.



FACULTAD DE INGENIERIA

APROBACION DEL ASESOR Y CO-ASESOR DE TESIS

Los que suscriben:

Ingeniero en Industrias Alimentarias **FREDY TAIPE PARDO**, identificado con CIP. N° 88460, profesor **Asociado** a Tiempo Completo e Ingeniero en Industrias Alimentarias **CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ**, identificado con CIP. N° 105639 profesor auxiliar nombrado adscritos al Departamento Académico de Ingeniería y Tecnología Agroindustrial, por la presente hacen constar:

Que el Informe Final de la Tesis intitulado: **"Influencia del pH en la extracción de aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades Blanca Junín y Rosada Junín"** cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **ABEL ISAÍAS BARRIAL LUJAN**; **CUMPLE CON LOS REQUISITOS** exigidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgamos la aprobación de la tesis corregida, declarando apto y autorizando su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 19 de Diciembre del 2014.

Ing. Fredy Taipe Pardo  
Asesor de Tesis

Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez  
Co-Asesor de Tesis

Bach. Abel Isaías Barrial Lujan  
Tesista



FACULTAD DE INGENIERIA

APROBACION DEL JURADO EVALUADOR DE TESIS

Los que suscribimos:

Integrantes del Jurado Evaluador de Tesis intitulado: "Influencia del pH en la Extracción de Aislado Proteico de Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) de las Variedades Blanca Junín y Rosada Junín" cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **ABEL ISAÍAS BARRIAL LUJAN; CUMPLE CON LOS REQUISITOS** exigidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgamos la aprobación de la tesis corregida, declarando apto y autorización para su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 22 de diciembre del 2014

Ing. David Juan Ramos Huallpartupa  
Presidente del Jurado Evaluador

Ing. Juvenal Rivas Leguía  
Primer Miembro del Jurado Evaluador

Ing. MSc. David Choque Quispe  
Segundo Miembro del Jurado Evaluador

## AGRADECIMIENTO

- Primero quiero agradecer a Dios por bendecirme a lo largo de mi vida y permitirme cumplir una más de mis metas.
- A la Universidad Nacional José María Arguedas – Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) por permitirme el uso de los laboratorios de química y control de calidad.
- Al Ing. Fredy Taipe Pardo asesor de tesis, por dedicarme su tiempo para darme sus consejos y recomendaciones durante el desarrollo de la investigación.
- Al Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Co-asesor de tesis, por guiarme y por sus recomendaciones valiosas durante el desarrollo de la tesis.
- Al Ing. MSc. Thomas Ancco Vizcarra por el apoyo incondicional en la investigación y hacer posible en conseguir el pH Inolab 730.
- A mis catedráticos: Ing. MSc. David Choque Quispe, Ing. David Juan Ramos Huallpartupa, Ing. Juvenal Rivas Leguía, Ing. MSc. Julio Cesar Siches Muñoz, Lic. Olinda Suaña Díaz por compartirme sus experiencias en las aulas universitarias.
- A mis compañeros y amigos con los que compartí durante mi formación profesional en especial por el compañerismo existente y por su amistad. Nidia, Sonia, Elibet, Ruth, Liliana, Evelyn, Haydee, Marleni, Abdiel, Kinder, Diego, Jimmy, Juan Erasmo, Edgar y Amilson, quienes sin dudar me colaboraron en el desarrollo de la Tesis.
- A mis padres Herminio Barrial Q. y María Carmen Lujan M. por los valores que me han entregado, por el cariño, la unión familiar y por apoyarme durante toda mi formación profesional.
- A mis hermanos Crispín, Lía y Noé por su apoyo incondicional y motivación constante.

## ÍNDICE GENERAL

	PAG.
DEDICATORIA .....	ii
PRESENTACIÓN .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	vi
ABREVIATURAS Y UNIDADES .....	xii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. ANTECEDENTES .....	3
1.1.2. Aislado de la proteína.....	12
1.1.3. El pH una medida de la acidez .....	13
1.2. DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN ESTUDIO .....	15
1.2.1. Aspectos generales de la quinua.....	15
1.2.2. PROPIEDADES GENERALES DE LAS PROTEÍNAS .....	23
1.2.3. LOS AMINOÁCIDOS.....	32
1.2.4. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE LAS PROTEÍNAS .....	35
1.3. JUSTIFICACIÓN .....	40
1.4. OBJETIVOS .....	42
1.5. PROBLEMA .....	43
1.6. HIPÓTESIS .....	43
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	44
2.1. Lugar de ejecución .....	44
2.2. Material de estudio .....	44
2.3. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIAL DE ESTUDIO DE LABORATORIO ....	45
2.4. METODOLOGÍA .....	48
2.4.1. Preparación de la harina de quinua.....	48
2.4.2. Caracterización físico química de la harina de quinua .....	48

2.4.3. Método para la extracción del aislado proteico de quinua .....	51
2.4.4. Determinación de proteínas totales .....	53
2.4.5. Análisis del perfil de aminoácidos esenciales de la proteína extraída .....	53
2.4.6. Determinación de las propiedades tecnofuncionales del aislado proteico de quinua. ....	54
2.5. ANALISIS ESTADISTICO PARA LA COMPARACION DE DATOS .....	63
2.5.1. Análisis estadístico .....	63
2.5.2. Diseño de bloques completos al azar DBCA .....	63
III. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	67
3.1. Resultados de la caracterización físico – química de la harina de qunua .....	67
3.2. Resultados de extraccion de proteina a diferente pH variedades blanca Junín y rosada Junín. 71	
3.3. Resultados de análisis del perfil de aminoácidos de proteína extraida de quinua variedad blanca Junín y variedad rosada Junín .....	94
3.4. Resultados de propiedades tecnofuncionales de la proteina extraida para su uso en los alimentos.....	109
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	120
4.1. CONCLUSIONES .....	120
4.2. RECOMENDACIONES .....	122
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
VI. ANEXO .....	134



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1: Principales variedades de quinua sembradas en el Perú .....	22
Tabla 2: Clasificación de las proteínas .....	25
Tabla 3: Granulometría de la harina de quinua variedad blanca Junín.....	67
Tabla 4: Granulometría de la harina de quinua variedad rosada Junín .....	69
Tabla 5: Composición proximal de la harina de quinua .....	70
Tabla 6: Datos de rendimientos de extracto proteico de quinua variedad blanca Junín .....	73
Tabla 7: (ANOVA) del rendimiento en la extracción de proteína de quinua variedad blanca Junín. ...	76
Tabla 8: Prueba múltiple de rango por LSD para pH alcalino .....	77
Tabla 9: Pruebas de Múltiple Rangos para rendimiento por pH ácido.....	78
Tabla 10: Datos de la cuantificación de proteína de los mayores rendimientos en la extracción.....	79
Tabla 11: Rendimiento en la obtención de aislado proteico de quinua variedad rosada Junín.....	84
Tabla 12: (ANOVA) de rendimiento de la extracción proteica de quinua variedad rosada Junín.....	87
Tabla 13: Prueba múltiple de rango por LSD para pH alcalino .....	88
Tabla 14: Prueba múltiple de rango por LSD para pH ácido.....	89
Tabla 15: Datos de la cuantificación de proteína de los mayores rendimientos en la extracción.....	91
Tabla 16: Analisis del perfil de aminoácidos de las muestras de quinua variedad blanca Junín y rosada Junín.....	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estructura del grano de quinua.....	17
<b>Figura 2:</b> Niveles de organización de las proteínas .....	31
<b>Figura 3.</b> Estructura general de los aminoácidos .....	33
<b>Figura 4:</b> Flujograma de proceso de solubilización de proteína.....	56
<b>Figura 5:</b> Flujograma de proceso de la extracción de proteína .....	59
<b>Figura 6:</b> Flujo de operaciones para el análisis cromatógrafo-HPLC.....	61
<b>Figura 7:</b> Perfil granulométrico de la harina de quinua variedad blanca Junín.....	68
<b>Figura 8 :</b> Perfil granulométrico de la harina de quinua variedad rosada Junín .....	69
<b>Figura 9:</b> Efectos principales para la proteína extraída de quinua (blanca Junín).....	82
<b>Figura 10 :</b> Comparación de la influencia en el rendimiento de la extracción proteica a pH alcalino	89
<b>Figura 11:</b> Efectos principales en la extracción proteica de quinua (rosada Junín) .....	90
<b>Figura 12:</b> Comparación del perfil de aminoácidos de las muestras de quinua .....	96
<b>Figura 13:</b> Comparación de picos del perfil de aminoácido estándar con las muestras de quinua ..	97
<b>Figura 14:</b> Identificación y comparación de las muestras con el aminoácido estándar.....	98
<b>Figura 15:</b> Pico de comparación de ácido aspártico y ácido glutámico VS estándar .....	99
<b>Figura 16:</b> Pico de comparación del aminoácido serina vs estándar .....	100
<b>Figura 17 :</b> Pico de comparación del aminoácido histidina, glicina y treonina vs estándar .....	101
<b>Figura 18:</b> Pico de comparación del aminoácido arginina y alanina vs estándar.....	102
<b>Figura 19:</b> Pico de comparación del aminoácido cisteína, valina y metionina vs estándar .....	103
<b>Figura 20:</b> Pico de comparación del aminoácido fenilalanina e Isoleucina vs estándar.....	105

<b>Figura 21:</b> Pico de comparación del aminoácido leucina y lisina vs estándar.....	106
<b>Figura 22:</b> Pico de comparación del aminoácido prolina vs estándar .....	107
<b>Figura 23:</b> Capacidad de retención de agua del extracto proteico de quinua blanca Junín .....	109
<b>Figura 24:</b> Capacidad de retención de agua de la quinua rosada Junín .....	110
<b>Figura 25:</b> Capacidad de emulsión para Chenopodium quinoa Willd (Blanca Junín).....	113
<b>Figura 26:</b> Capacidad de emulsión para Chenopodium quinoa Willd (Rosada Junín) .....	114
<b>Figura 27:</b> Capacidad de formación de espuma de la quinua (blanca Junín) .....	116
<b>Figura 28:</b> Capacidad de formación de espuma de quinua (rosada Junín).....	117

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1:</b> Imagen del material de estudio y proceso de extracción de proteína .....	134
<b>ANEXO 2:</b> Imagen proceso de cuantificación de perfil de aminoácidos .....	138
<b>ANEXO 3:</b> Procedimiento de la determinación de proteínas por el método de Kjeldahl.....	139
<b>ANEXO 4:</b> Procedimiento de la cuantificación de aminoácidos esenciales.....	140
<b>ANEXO 5:</b> Replicas de los datos experimentales de quinua variedad blanca Junín .....	142
<b>ANEXO 6:</b> ANOVA Y LSD para rendimiento proteico de variedad blanca Junín.....	142
<b>ANEXO 7:</b> Replicas de los datos experimentales de quinua variedad rosada Junín.....	144
<b>ANEXO 8:</b> ANOVA y LSD para rendimiento proteico de variedad blanca Junín .....	145
<b>ANEXO 9:</b> Resultados de aminoácido por triplicado de las muestras por HPLC .....	146
<b>ANEXO 10 :</b> Propiedades tecnofuncionales para su uso en los alimentos.....	147

## ABREVIATURAS Y UNIDADES

<b>A</b>	:	<i>Chenopodium quinoa Willd</i> (Blanca Junín) sin tratamiento
<b>AOAC</b>	:	Association of Official Analytical Chemists
<b>ANOVA</b>	:	Análisis de varianza.
<b>B</b>	:	Aislado proteico de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> (blanca Junín)
<b>C</b>	:	<i>Chenopodium quinoa Willd</i> (rosada Junín) sin tratamiento
<b>CE</b>	:	Capacidad de emulsión
<b>CFE</b>	:	Capacidad de formación de espuma
<b>cm</b>	:	Centímetros.
<b>CRA</b>	:	Capacidad de retención de agua
<b>C-18</b>	:	Cartucho de carbono 18.
<b>D</b>	:	Aislado proteico de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> (rosada Junín)
<b>DAD</b>	:	Detector con arreglo de diodos.
<b>DBCA</b>	:	Diseño de bloques completos al azar
<b>FAO</b>	:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
<b>g</b>	:	Gramos.
<b>gl</b>	:	Grados de libertad
<b>ha</b>	:	Hectárea
<b>HCl</b>	:	Ácido clorhídrico.
<b>HPLC</b>	:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
<b>l</b>	:	Litros.

<b>M</b>	:	Molar
<b>m</b>	:	Metros.
<b>mg</b>	:	Miligramos
<b>min</b>	:	Minuto
<b>MINAG</b>	:	Ministerio de Agricultura
<b>ml</b>	:	Mililitros.
<b>mM</b>	:	Milimolar
<b>mm</b>	:	Milímetros.
<b>m.s.n.m.</b>	:	Metros sobre el nivel del mar.
<b>mAU</b>	:	Mili unidades de absorbancia
<b>N</b>	:	Normalidad.
<b>NaOH</b>	:	Hidroxido de sodio.
<b>nm</b>	:	Nanometros.
<b>pH</b>	:	Potencial de hidrogeniones.
<b>p/v</b>	:	Peso/volumen
<b>OMS</b>	:	Organización Mundial de Salud
<b>STD</b>	:	Estándar
<b>t:</b>	:	Tonelada
<b>T</b>	:	Temperatura (°C).
<b>μl</b>	:	Microlitro.

## RESUMEN

La quinua es un cultivo que ha sido considerado por la FAO como uno de los alimentos del futuro a nivel mundial por su gran capacidad de adaptación agronómica, alto contenido de aminoácidos esenciales, su contribución a la seguridad alimentaria y economía de la población andina. En el trabajo de investigación se estudió la influencia de pH en condiciones (de solubilización alcalina y precipitación ácida) en la extracción de aislado proteico de quinua variedad blanca Junín y quinua variedad rosada Junín.

La extracción del aislado proteico fue realizada a través de la metodología desarrollada por (Mustakas y Sohns 1976 citado por Ventura, 2003), cuantificación del perfil de aminoácidos método de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) descrita por (Agilent Zorbax Eclipse AAA, 2008) y las propiedades tecnofuncionales desarrolladas por (Chau y Huang, 2003); el efecto de la concentración en la capacidad de emulsión, se determinó con el método descrito por (Sathe y Salunkhe, 1981) y para evaluar la capacidad de formación de espuma se siguió el método de (Chau *et al.*, 1977), cuyo análisis estadístico que se empleó es DBCA (Diseño de Bloques Completo al Azar), seguido de las comparaciones múltiples de diferencia mínima significativa LSD (least significant difference).

A partir de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad blanca Junín) con análisis proximal de: Humedad 11,26 %; Proteína 15,81 %; Grasa 6,20 %; Ceniza 4,38 % y Carbohidratos 62,35 %; se logró extraer el aislado proteico con rendimiento de 37,80 % en condiciones a pH 8,5 de solubilización y pH 4,5 de precipitación proteico conteniendo 74,20 % de proteína en la muestra y *Chenopodium quinoa Willd* (variedad rosada Junín) con análisis proximal de: Humedad 12,72 %; Proteína 16,62 %; Grasa 6,32

%; Ceniza 4,43 % y Carbohidratos 59,91 %; de ello se obtiene un rendimiento de 44,44 % en condiciones a pH 9,0 de solubilización y pH 4,5 de precipitación conteniendo 72,86 % de proteína en la muestra, además se determinó el perfil de aminoácido con el equipo Cromatógrafo Líquida de Alta Performance (HPLC) a las muestras de quinua variedad blanca Junín sin tratamiento, aislado proteico de variedad blanca Junín, quinua variedad rosada Junín sin ningún tratamiento y aislado proteico de quinua variedad rosada Junín, los cuales se cuantificaron el perfil de aminoácidos encontrándose la fenilalanina, lisina, glicina, ácido glutámico, arginina, leucina, histidina, ácido aspártico, serina, alanina, metionina, treonina, valina, isoleucina y prolina. finalmente se determinó las propiedades tecno funcionales encontrando valores para el aislado proteico de quinua variedad blanca Junín cuyo capacidad de retención de agua es  $3,51 \text{ ml/g} \pm 0,08$  de aislado proteico, capacidad de emulsión es  $336.5 \text{ ml} \pm 0,12$  de aceite en 100 ml de solución) por cada gramo de extracto proteico y un  $60 \% \pm 1,95$  de capacidad de formación de espuma y los valores encontrados para el aislado proteico de quinua variedad rosada Junín cuyo capacidad de retención de agua es  $3,9 \text{ ml/g} \pm 0,19$  mientras la capacidad de emulsión es  $342 \text{ ml} \pm 0,38$  de aceite en 100 ml de solución) por cada gramo de aislado proteico y  $50 \% \pm 1,2$  de capacidad de formación de espuma.

**Palabras clave:** *Chenopodium quinoa Willd* (blanca Junín y rosada Junín), proteína, rendimiento, perfil de aminoácidos, propiedades tecnofuncionales, HPLC, pH, solubilización, precipitación, alcalino y ácido.

## ABSTRACT

The quinoa is a crop which has been considered by the FAO as a food of the future at world level by its great capacity to agronomic adaptation, high content of essential amino acids, their contribution to food safety and economy of the Andean population. In the research the influence of pH were studied under conditions (alkaline solubilization and acid precipitation) in extracting protein isolate white quinoa variety Junín and pink quinoa variety Junín.

Protein isolate extraction was performed by the method developed by (Moustakas and Sohns, 1976 mentioned for Ventura 2003), amino acid profile quantification method of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) described by (Agilent Zorbax Eclipse AAA, 2008). and tecnofuncionales properties developed by (Chau and Huang, 2003); the effect of concentration on the ability of emulsion was determined with the method described by (Sathe and Salunkhe, 1981) and was to assess followed the method of (Chau et al., 1977) and For statistical analysis, a DBCA (Design randomized complete block), followed by multiple comparisons minimum significant difference LSD (least significant difference) was used.

From *Chenopodium quinoa Willd* (white variety Junín) with proximal analysis: Moisture 11,26 %; Protein 15,81 %; Fat 6,20 %; Ash 4,38 % and carbohydrates 62,35 %; it was possible to extract protein isolate with performance of 37,80 % in terms of pH 8,5 solubilization and precipitation pH 4,5 of protein containing 74,20 % protein in the sample and *Chenopodium quinoa Willd* (pink variety Junin) with proximal analysis: Moisture 12,72 %; Protein 16,62 %; Fat 6,32 %; Ash 4,43 % and Carbohydrates 59,91 %; thus a yield of 44,44 % was obtained at pH 9,0 in terms of solubilization and precipitation pH 4,5 containing 72,86% protein in the sample, besides the amino acid profile was determined with the



equipment High Performance Liquid chromatograph (HPLC) samples of quinoa white Junín variety untreated protein isolated from white variety Junín, quinoa pink variety Junín untreated and isolated protein quinoa pink variety Junín, which the amino acid profile were quantified meeting phenylalanine, lysine, glycine, glutamic acid, arginine, leucine, histidine, aspartic acid, serine, alanine, methionine, threonine, valine, isoleucine and proline finally techno functional properties was determined by finding the values for white quinoa protein isolate variety Junin whose water holding capacity is  $3,51 \text{ ml / g} \pm 0,08$  of protein asylum, emulsifiability is  $336,5 \text{ ml} \pm 0,12$  of oil in 100 ml solution) per gram of protein extract and  $60 \% \pm 1,95$  of capacity of foaming and the values found for the protein asylum quinoa variety Junin pink whose water holding capacity is  $3,9 \text{ ml / g} \pm 0,19$  while the capacity is  $342 \text{ ml} \pm 0,38$  emulsion oil in 100 ml solution) per gram of protein isolate and  $50 \% \pm 1,2$  foaming capacity.

**Key words:** *Chenopodium quinoa Willd* (white Junín and pink Junín), protein, yield, amino acid profile, tecnofuncionales properties, HPLC, pH, solubilization, precipitation, alkaline and acid.

## I. INTRODUCCIÓN

La tendencia de los últimos años es producir alimentos, de alto valor nutritivo y que su procesamiento sea de muy buena calidad con mayor aceptación organoléptica en el mercado local, regional, nacional e internacional permitiendo ampliar su vida útil de los productos orgánicos y nativos de la región de modo que el procesamiento de alimentos conduce a estudiar los beneficios nutricionales y funcionales. La alimentación en el mundo actual, plantea problemas tanto cuantitativos como cualitativos, en lo que concierne al aspecto cuantitativo, la problemática del hambre en el mundo es una preocupación general, a causa de un sin número de factores como el aumento de la población, que no estén en armonía con el crecimiento de alimentos calóricos proteicos (Cheftel *et al.*, 1989).

Una forma para contrarrestar el problema de la deficiencia de aminoácidos esenciales, es identificar alimentos (leguminosas) con proteína de alto valor biológico (Ayala, 2005).

El gran valor de la quinua es de ser un complemento alimentario para que la dieta alcance un valor nutritivo alto y es considerada por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ) y la OMS (organización mundial de salud) como alimento único del reino vegetal por su altísimo valor nutricional en comparación con otros cereales debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales de su proteína. (Carrasco y Soto, 2010 citado por FAO, 2011).

Según Zamudio, (2003). La quinua constituye un producto de excepcionales cualidades nutritivas, que posee importancia internacional por ser alta en proteínas al compararlo con el resto de los cereales, pero el verdadero valor de la quinua está en la calidad de sus proteínas, es decir, en la combinación de mayor proporción de aminoácidos esenciales para la alimentación humana, que le otorgan un alto valor biológico.

Además la quinua posee alto contenido de vitaminas, especialmente C, E y del complejo B. También es rica en minerales como el hierro, fósforo, potasio y calcio (Albarran, 1993).

Así mismo contiene fitoestrógenos, sustancias con efectos parecidos a los estrógenos, y por ende constituyen una forma de tratamiento hormonal natural de los síntomas menopáusicos y alteraciones en el ciclo menstrual, además previenen enfermedades como la osteoporosis, cáncer (de mama, colon, endometrio y próstata) y enfermedades cardiovasculares (Zamudio, 2003).

También ayuda el desarrollo de células del cerebro disminuye el riesgo de diabetes, etc. Estas propiedades han permitido abrir una nueva perspectiva en el mercado internacional.

En la actualidad por falta de conocimiento de los beneficios y composición nutricional de nuestros productos se viene desaprovechando en el proceso tecnológico tales como el uso en los alimentos como ingrediente funcional a partir de quinua, recurso potencial alimenticio en esta parte del país, debido a que aún no han sido sujeto a investigaciones que demuestren su potencial en composición de los aminoácidos presentes en el aislado proteico de quinua de las variedades blanca Junín y rosada Junín producida en nuestra localidad cuyo producción es orgánica.

Por lo tanto, es necesario inducir el consumo de quinua o sus derivados como extracto proteico, debido a que, de esta forma permiten asimilar la alta concentración de proteína. Por lo mencionado a través de este trabajo de investigación en la evaluación de la **“Influencia de pH en la extracción del aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín”**. Permita la extracción y purificación del mismo cuya fuente rica en proteína se emplee en la dieta como ingrediente o como producto principal, ya que aporta un excelente valor nutritivo y por sus propiedades tecnofuncionales en los sistemas alimentarios.

Además para hacer eficiente nuestros productos elaborados, requiere conocer las propiedades tecnofuncionales, el desconocimiento de esta importante propiedad conlleva a un ineficiente control de proceso. Lo que puede traer como consecuencia alteraciones físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales en el producto.

Muchas de las propiedades funcionales influyen sobre el carácter sensorial del alimento (textura), pero juegan un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento (Cheftel *et al.*, 1989).

El uso de la proteína, como un ingrediente funcional, contribuye significativamente al uso general de la quinua para propósitos alimenticios y de salud. Con el crecimiento de la demanda de alimentos, particularmente los alimentos llamados de conveniencia con mejor funcionalidad y un precio más razonable, el uso de la proteína de quinua aumentará en el futuro.

### **1.1. ANTECEDENTES**

Según MINAG, (2013). A través de la Dirección General de Competitividad Agraria manifiesta la producción mundial de quinua que mantiene un sostenido crecimiento tanto de la superficie cosechada como del volumen producido. Entre el año 2005 y el año 2011, el volumen mundial producido aumentó un 37,3 % pasando de 58,443 t a 80,241 t. Con respecto a la superficie cosechada para el mismo período, la misma creció un 47,4 % (68,863 ha a 101,527 ha). En 2011, la producción mundial de quinua alcanzó las 80,241 t, distribuidas de la siguiente manera: Perú 51,31 % (41,168 t.), Bolivia 47,68 % (38,257 t.) y Ecuador 1,02 % (816 t.). Cabe resaltar que para el período de análisis, la producción de quinua en Perú un 26 %, en Bolivia aumentó un 52 % y en Ecuador un 25 %. Si se considera la

extensión dedicada al cultivo, en el mismo tramo, Bolivia promedió el 60,5 % de la superficie cosechada total a nivel mundial, Perú el 38,3 % y Ecuador el 1,2 % restante. La superficie sembrada de quinua en las últimas nueve campañas agrícolas ha venido creciendo a una tasa promedio de 5,8 % anualmente, desde la campaña 2004-2005 a la 2012-2013. En cuanto a la superficie sembrada a nivel departamental en la campaña agrícola 2011-2012, registró un crecimiento del 10,5 %, con respecto a la campaña anterior. El región de Puno concentra el mayor nivel de área sembrada con 30,330 ha, y una variación de 6,9 % superior que la anterior campaña agrícola. Ayacucho con 4,308 ha, y un crecimiento de 54,2 %. Cusco señala 2,216 ha de superficie sembrada y una disminución de -3,9 %. Apurímac registró 1,331 ha y un crecimiento de 1,1 % de campaña anterior. Junín sembró 1,436 ha, con un crecimiento de 18,6 %. A enero de la actual campaña agrícola 2012-2013, se vienen sembrando alrededor de 45,252 ha con un crecimiento del 8,0 % con respecto a la campaña anterior. Puno sigue siendo el mayor productor concentrando 31,258 ha, con una participación del 69,1 %. Le sigue Ayacucho con 5,692 ha y una participación del 12,6 %, Cusco con 2,576 ha y una participación de 5,7 %. Apurímac y Junín ambos con 1,633 ha y una participación de 3,6 %. Con 1,615 kg/ha Estos regiones en conjunto concentran el 94,6 % de toda la superficie sembrada a nivel nacional (MINAG, 2013).

Villanueva *et al.*, (2001) manifiesta, Se ha empleado aislados proteicos desde hace muchos años, sin embargo en los últimos años se está desarrollando el uso de fuentes alternativas de proteína de origen vegetal, tales como girasol, colza, garbanzo, lupinos, etc. Dichos aislados son usados como insumo en la elaboración de muchos productos en la industria de alimentos y la farmacéutica.

**Goncalvess *et al.*, (1997)**, en su investigación titulada **“Obtención y Caracterización de Aislados Proteicos de Colza”**. Ha diseñado un proceso de obtención de aislados proteicos a partir de harina de colza desengrasada. El método incluye la extracción básica de las proteínas solubles seguido de una precipitación acida en el punto isoeléctrico. El precipitado es lavado con agua pH 4,5 etanol y acetona, obteniéndose un aislado proteico con un 86 % de proteína y reduciéndose el contenido en polifenoles y azúcares solubles en más de un 90 % respecto a la harina desengrasada. El componente mayoritario de la harina de colza deshidratada son las proteínas 31,4 % seguidas de las fibras 29,5 %. Así mismo, los sólidos disueltos 13% y los azúcares solubles 4,9 % se encuentran en cantidades significativas.

**Rivera (2006)**, en su investigación titulada **“Obtención, Caracterización Estructural y Determinación de las Propiedades Funcionales de un Aislado Proteico de Quinoa Orgánica (*Chenopodium quínoa*)”**. Concluye obteniendo el contenido de proteínas totales del aislado de 77,2 %. Entre los aminoácidos esenciales, destacan el alto contenido en lisina, metionina y arginina. Compuestas principalmente por albúminas del tipo 2 S y globulinas 11 S. A través de los resultados de espectroscopia UV se verificó la presencia de globulinas. El estudio de las propiedades funcionales muestra que el aislado de quinoa posee un alto nivel de solubilidad, especialmente sobre el pH 5, con una solubilidad de 76,6 %, la cual aumentó con el pH hasta alcanzar un máximo de 94,6 %, a pH 11. La capacidad de retención de agua fue buena, con valores entre 2,5 y 3,0 ml/g aislado proteico, con una capacidad máxima de absorción de agua de 1,8 g agua/g aislado, y una velocidad inicial de 1,34 g agua/ g aislado.

**Salgado (2009)**, en su investigación titulada “**Proteínas de Girasol: Aislamiento, Caracterización y Aplicación en la Industria Alimentaria**” se realizó un protocolo básico de solubilización y precipitación isoeléctrica a pH 4,5. Se eligió este valor de pH para realizar la precipitación por ser el que permitió mayor rendimiento proteico en ensayos preliminares. a pH 2 y 6 se obtuvieron porcentajes de solubilidad proteica muy bajos (aproximadamente de 1 a 4 %), y que los mismos fueron incrementándose a medida que el medio se tornó alcalino, alcanzando un valor de solubilidad máximo a pH 11, correspondiente al 40 % de la proteína total determinado por método Kjeldahl.

La solubilidad es máxima a pH muy ácidos pH 2 - 3 o muy alcalinos pH 9 - 11. En dichas zonas, las proteínas poseen carga neta positiva o negativa, respectivamente; y las fuerzas repulsivas son la causa del incremento en su solubilidad. Tiene capacidad de absorción de agua, variando entre 2,1 y 5,1 g H<sub>2</sub>O/g producto, Propiedades espumantes de proteínas de girasol con parámetros evaluados Dispersión (0,5-5 %); pH 1,5 - 10,5; Temperatura de 15 – 60 °C; capacidad de formación de espuma y estabilidad Máxima expansión de la espuma a pH 7,5; la mayor estabilidad a pH 6,5 - 10,5; no hay efecto de la temperatura; aislado de girasol con mayores capacidad de formación y estabilidad de espuma.

**Castel (2010)**, en su investigación del **Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto**. En este trabajo, se caracterizaron distintas muestras proteicas de *Amaranthus mantegazzianus*, obtenidas utilizando la metodología tradicional de aislamiento de proteínas a nivel de planta piloto y métodos alternativos de separación: extracción ácida inicial y extracción alcalino de proteínas combinadas con precipitación isoeléctrica o ultrafiltración. En

este sentido, con el método tradicional se obtuvo el mayor rendimiento de extracción 19,1 % y la menor concentración proteica 50,9 %; con el método alternativo con precipitación isoeléctrica se obtuvo la mayor concentración de proteínas 73,1 % y un rendimiento más bajo 7,4 % respecto al método tradicional, mientras que con la ultrafiltración se obtuvo menor concentración proteica 52,5 % y el menor rendimiento 6,3 %. La caracterización fisicoquímica de las muestras se llevó a cabo con distintos métodos y técnicas: electroforesis en condiciones desnaturalizantes (SDS-Page) y con tricina para separación de proteínas de bajo peso molecular, cromatografía de exclusión molecular (HPLC-SEC), determinación de solubilidad de proteínas e hidrofobicidad superficial. Este último, se destaca por su contenido de lisina que se concentró 80 % respecto a la harina desgrasada. El suero de la precipitación isoeléctrica se destacó entre las muestras por su alta concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante. Utilizando la metodología tradicional de aislamiento obtenido por precipitación isoeléctrica sin extracción ácida inicial, se observa principalmente un aumento de fenilalanina (43 %), metionina (40 %), treonina (34%) e histidina (32 %); y una disminución del 17 % de glicina y 10 % de cisteína. En el método alternativo con precipitación isoeléctrica con extracción ácida inicial, el aumento de las concentraciones de aminoácidos fue menor y puede destacarse el contenido de isoleucina y fenilalanina (aumento del 31 y 38 % respectivamente); por otro lado, se observa una disminución de serina y una pérdida considerablemente mayor de glicina que en el método tradicional en este concentrado 31 %. El Suero obtenido de la precipitación isoeléctrica, presenta una disminución del contenido de la mayoría de los aminoácidos y un aumento destacado de metionina de 45 % y cisteína 56 %, lo que podría indicar que se ha concentrado en el Suero la fracción de albúminas (hidrosolubles), ricas en estos aminoácidos.



**Pincirolí (2010), en su investigación “Proteínas de Arroz Propiedades Estructurales y Funcionales”**, concluye que los mayores rendimientos de extracción se llevan a cabo en las harinas integrales de la variedad Nutriar. Los rendimientos aumentaron con la alcalinidad del solvente de extracción lo que se correspondió con la solubilización de la fracción mayoritaria (glutelina). La preparación de aislados a pH 2 permitió detectar diferencias entre las proteínas provenientes de granos pulidos e integral. Los resultados obtenidos indicaron las condiciones óptimas de extracción corresponde a la utilización de solvente a pH 12. Las condiciones de pH en que estos aislados presentan sus propiedades de superficie óptimas constituyen una limitación para su utilización como ingrediente alimentario. Sin embargo las correlaciones analizadas especialmente a pH 9 y las observadas en el resto de los solventes utilizados permitieron reconocer una alta relación de la funcionalidad con la solubilidad de las proteínas de arroz. De esta manera, esta fuerte relación hace suponer que posibles modificaciones en la molécula proteica (como hidrólisis o acilación) que provoquen un incremento en su solubilidad permitirían la utilización de aislados proteicos de arroz como potenciales ingredientes para la industria.

**Urrutia (2010), en su investigación titulada “Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*)”**.

Obtiene un aislado proteico en base a los parámetros evaluados, analizados y optimizados para tal fin utilizaron HCl 0,1 N y NaOH 0,1 N., dichos valores considerados como óptimos fueron. Los factores pH de extracción es 9,3; relación harina: solvente es 1:28 y temperatura de extracción 43 °C, el rendimiento fue de 35 %, el rendimiento se ha calculado en base a la harina deslupinizada y

semidesgrasada de tarwi que ingresa a la extracción alcalina y la cantidad de aislado proteico obtenido al final del proceso.

El aislado obtenido en base a sus parámetros óptimos mostró el siguiente análisis proximal de humedad 4,87 %, grasa 0,61 %, proteína 92,83 %, ceniza 1,48 %, fibra 0,39 % y carbohidratos 1,12 % respectivamente.

Las propiedades funcionales básicas del aislado obtenido de tarwi, tales como la capacidad de absorción de agua tiene 98 %, capacidad de absorción de aceite es 160 % y la capacidad espumante 78 % respectivamente. Con lo que respecta con Capacidad y estabilidad de espuma el volumen disminuye de 156 a 78 ml al cabo de 90 minutos en un 51,9 %. Sin embargo la capacidad espumante calculado resultó siendo 78 %, el cual es relativamente bajo con respecto a los valores reportados por otros aislados proteicos.

**Ávila (2011), en su Investigación de “determinación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos”** concluye el trabajo de investigación en función a la extracción acida cuyo rendimiento de proceso de extracción es 24,55 %, con respecto a la harina desengrasada de soya, debido a la eliminación de carbohidratos solubles e insolubles, en donde el contenido de proteína del aislado de soya fue del 85,45 % a una relación 1:6 (p/v), debido a la utilización de una partícula fina de harina 45 µm, a la relación sólido / líquido y al pH alcalino, en el cual la proteína se vuelve más soluble

Las propiedades funcionales en el aislado tiene valores de absorción de agua es 68,46 % y en el hidrolizado es 45,83 % respecto a los pH 2,0 a pH 10,0; debido a la eliminación de carbohidratos, a la ruptura de la estructura cuaternaria, los valores alcanzados de absorción de aceite es 1,60 g aceite / g de proteína, registrado a los 20 min de reposo. La capacidad de formación de espuma el aislado presentó un ligero incremento a pH 6,0 y pH 8,0 con un porcentaje del 252,4 %, y del 284,62 %.

**Martínez et al., (2011), en su investigación “Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuyá (*Passiflora edulis f.*)”** En este trabajo se presentan las propiedades funcionales de la harina y aislados proteicos de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis f.*). Los aislados proteicos fueron obtenidos de la harina desengrasada por solubilización alcalina a pH 12 y precipitación ácida a pH 4 a diferentes concentraciones de NaCl seguidas de precipitación isoelectrónica, con un contenido proteico de 95,6 %; con concentraciones salinas (0,25 %; 0,5 %; 1 % y 2 % de NaCl) 93,5 %; 91,4%; 89,4% y 90,6% de proteína así se tiene el resultado según método de Kjeldahl. Se evaluaron las distintas propiedades funcionales como; capacidad de retención de agua (CRA) lo cual es  $2,85 \pm 0,7$  ml agua/g a 2 % de NaCl absorción de grasa (CRL), capacidad de hinchamiento (CH),  $280 \pm 4$  % a 2 % de NaCl Los resultados de la Capacidad de formación de espuma (CE) y estabilidad de la espuma (EE) a los 90 min para aislados Obtenidos se tiene 98,8 % CE y 52 % EE con una solución de 2 % de NaCl con las demás concentraciones salinas son bajas.

**Arango et al., (2012), en su investigación “Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrinaedulis*)”** utilizando los solventes: agua destilada, cloruro de sodio al 5%, hidróxido de sodio 0,01 N y etanol al 70 %, para evaluar la extracción de proteínas a partir de la harina de chachafruto. Como resultado se obtuvo que la harina de chachafruto contiene un 18,4 % de proteína en base seca. Los rendimientos de extracción con una relación harina: solvente de 1:40 y tiempos de 20 y 60 min fueron de 54 % y 62 % de proteína respectivamente; mientras que, cuando la relación harina: solvente fue de 1:20, el rendimiento de extracción fue de 37 % y 47 % de proteína para tiempos de 20 y 60 minutos respectivamente. Al aumentar la concentración de disolvente se incrementa el coeficiente de transferencia de masa resultando una mayor extracción de proteína.

**Sandoval (2012), en su investigación “aislamiento y caracterización de las proteínas de reserva de chía (*salvia hispanica* l.)”.** El contenido de proteína fue de 22,7 %. Las albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas fueron extraídas secuencialmente de acuerdo a la solubilidad. Las globulinas constituyeron el 52 % de las proteínas totales, representando la fracción mayoritaria seguida por las albúminas con un 17,3 %, y en menor proporción las glutelinas 14,5% y las prolaminas con un 12,7 %. La caracterización térmica de las fracciones mostro que las albúminas (103,6 °C) y globulinas (104,7 °C) poseen mejor estabilidad con temperaturas de desnaturalización altas, seguidas por las glutelinas (92,2 °C) y las prolaminas (86,3 °C) con valores menores. Los resultados obtenidos de la determinación del coeficiente de sedimentación de las globulinas nos revelaron la presencia de globulinas 11 S y 7 S. El patrón electroforético de las globulinas comprobó que esta fracción en particular tiene alguna relación estructural con globulinas 11 S, ya que en condiciones nativas se

observó una banda correspondiente de 383 kDa la cual se resolvió mediante SDS-PAGE (-βME) en una subunidad principal de 55 kDa, y ésta en condiciones reductoras se resolvió en dos bandas de 34 y 23 kDa, las cuales representan la subunidad ácida y básica de la proteína 11S. Estos últimos datos se confirmaron mediante la identificación de péptidos utilizando espectrometría de masas. La proteína mayoritaria 11S se logró aislar mediante electroelución. Finalmente se llevó a cabo una evaluación nutricional básica, encontrándose que las semillas y las globulinas poseen un buen balance de aminoácidos, además de poseer niveles altos de digestibilidad *in vitro*.

### **1.1.2. Aislado de la proteína**

Actualmente, debido al incremento de la demanda proteínica en el mundo y la importancia en la nutrición, para la población en general. Es de gran interés en la dieta, las proteínas vegetales (leguminosas, pseudocereales, cereales, algas y hojas), pues son una nueva alternativa, en este contexto las proteínas aisladas de los vegetales están ganando importancia en la industria alimenticia a causa de su alto contenido proteínico. La moderna tecnología de alimentos permite una utilización más eficaz de las proteínas vegetales, mediante la elaboración de extractos proteicos de mayor calidad, además del adecuado control de las propiedades hace su utilización cada vez más frecuente en la formulación de alimentos nuevos. (Callisaya y Alvarado, 2009). Los fines perseguidos cuando se extraen las proteínas vegetales son: nutricional, funcional, organoléptico, económico.

- Mejorar el valor nutricional, obteniéndose mediante la eliminación de sustancias tóxicas. Mejorar las características organolépticas, resulta de la eliminación durante la extracción de pigmentos y aromas.

- Mejorar las propiedades funcionales, las cuales resultan del enriquecimiento proteico y de los cambios de las condiciones del medio por eliminación de ciertos constituyentes indeseables.
- Valorar las producciones alimenticias tradicionales, dándoles una mejor utilización de los recursos que se tiene.

Los aislados proteicos son la forma comercial más purificada, que se logran eliminando los polisacáridos, oligosacáridos y algunos otros componentes ya sea por: hidrólisis y posterior precipitación, por adición de ácidos minerales, controlando los diferentes parámetros como: el pH, temperatura, solubilidad y otros, que permiten el enriquecimiento de la proteína requerida. (Callisaya y Alvarado, 2009).

### **1.1.3. El pH una medida de la acidez**

Asociados recíprocamente a los conceptos de acidez y basicidad se encuentran los conceptos del pH (potencial del ion hidronio  $H_3O^+$ ) y del pOH (potencial del anión oxhidrilo:  $OH^-$ ) (Dick, 1973).

Puesto que las concentraciones de los iones  $H^+$  y  $OH^-$  en disoluciones acuosas con frecuencia son números muy pequeños y, por tanto, es difícil trabajar con ellos, Soren Sorensen propuso, en 1909, una medida más práctica denominada pH. El pH de una disolución se define como el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno (en mol/l) (Chang, 2010).

$$pH = -\log [H_3O^+] \text{ o } pH = -\log [H^+]$$

El logaritmo negativo proporciona un número positivo para el pH, el cual, de otra manera, sería negativo debido al pequeño valor de  $[H^+]$ . Así, el término  $[H^+]$  sólo corresponde a la parte numérica de la expresión para la concentración del ion hidrógeno, ya que no se puede tomar el logaritmo de las

unidades. Entonces, al igual que la constante de equilibrio, el pH de una disolución es una cantidad adimensional (Chang, 2010).

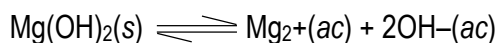
Debido a que el pH sólo es una manera de expresar la concentración del ion hidrógeno, las disoluciones ácidas y básicas a 25°C se identifican por sus valores del pH, como sigue:

- Disoluciones ácidas:  $[H^+] > 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $\text{pH} < 7.00$
- Disoluciones básicas:  $[H^+] < 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $\text{pH} > 7.00$
- Disoluciones neutras:  $[H^+] = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 7.00$

El pH aumenta a medida que  $[H^+]$  disminuye (Chang, 2010).

### **El pH y la solubilidad**

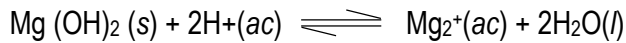
La solubilidad de muchas sustancias también depende del pH de la disolución. Considere el equilibrio de solubilidad del hidróxido de magnesio:



Al añadir iones  $\text{OH}^{-}$  (con lo que aumenta el pH), el equilibrio se desplaza hacia la izquierda y disminuye la solubilidad del  $\text{Mg(OH)}_2$ . (Este es otro ejemplo del efecto del ion común.) Por otra parte, al añadir iones  $\text{H}^{+}$  (con lo que disminuye el pH), el equilibrio se desplaza hacia la derecha y la solubilidad del  $\text{Mg(OH)}_2$  aumenta. Por ello, las bases insolubles tienden a disolverse en disoluciones ácidas. De igual forma, los ácidos insolubles se disuelven en disoluciones básicas (Chang, 2010).

En un medio con un pH menor que 10,45, la solubilidad del  $\text{Mg(OH)}_2$  debería aumentar. Esta conclusión se basa en el hecho de que un pH más bajo significa una mayor concentración de  $[H^+]$  y una menor concentración de  $[OH^-]$ , como se esperaría de la expresión  $K_w = [H^+]$ .

[OH<sup>-</sup>]. En consecuencia, el valor de [Mg<sup>2+</sup>] aumenta para mantener la condición de equilibrio y se disuelve más Mg(OH)<sub>2</sub>. El proceso de disolución y el efecto de los iones H<sup>+</sup> adicionales.



Si el pH del medio fuera mayor que 10,45; [OH<sup>-</sup>] sería mayor y la solubilidad del Mg(OH)<sub>2</sub> disminuiría por efecto del ion común (OH<sup>-</sup>). (Chang, 2010).

## 1.2. DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN ESTUDIO

### 1.2.1. Aspectos generales de la quinua

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) es un producto originario de las regiones andinas, desde la época de los Incas, hace por lo menos 3000 años. Las especies nativas y las formas cultivadas de quinua se hallan distribuidas en los Andes desde Venezuela, Perú hasta Chile incluyendo el norte argentino, en diferentes rangos altitudinales. (Fontúrbel, 2003).

Su cultivo es posible desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de altura. Su adaptación climática es alta, incluso en ambientes desfavorables, desde climas cálidos (35 °C) hasta climas fríos (-8 °C), con precipitaciones que oscilan desde los 250 mm hasta los 2000 mm al año, en suelos francos, arenosos, arcillosos, con pH alcalino (9,0) hasta suelos ácido (4,5). Su amplia variabilidad fenotípica y genética, le otorga una mayor capacidad de sobrevivencia a la especie frente a las drásticas adversidades climáticas donde pueda ser cultivada, otorgándole una mayor seguridad al momento de la cosecha. Existen 3000 variedades conservadas de quinua, mostrando variabilidad en el color de la semilla, planta, tallos, tipos de inflorescencia, contenido de saponina, proteína, betacianinas, contenido de oxalatos de calcio, adaptación a diferentes condiciones agroecológicas. (Sepúlveda *et al.*, 2004).



Las variedades de quinua presentan escasa información sobre las características y potencialidades del grano. Estas variedades poseen una gran diversidad de genotipos, sin embargo, se estima que se ha producido una desaparición importante de genotipos durante los últimos 50 años. Descriptores de interés para la caracterización de las variedades son el color de la panoja y del grano, días de siembra y cosecha, tamaño del grano, densidad de la panoja, valor nutritivo y aptitud de usos (Sepúlveda *et al.*, 2004).

#### a) Descripción botánica

De acuerdo Mujica *et al.*, (2001) la clasificación taxonómica de la quinua es la siguiente.

Reino	: Vegetal
División	: Fanerógamas
Subdivisión	: Angiosperma
Clase	: Dicotiledónea
Subclase	: Archiclámidea
Orden	: Centrosperma
Familia	: Chenopodiaceae
Género	: <i>Chenopodium</i>
Sección	: chenopodia
Subsección	: cellulata
Especie	: <i>Chenopodium quínoa Willd</i>

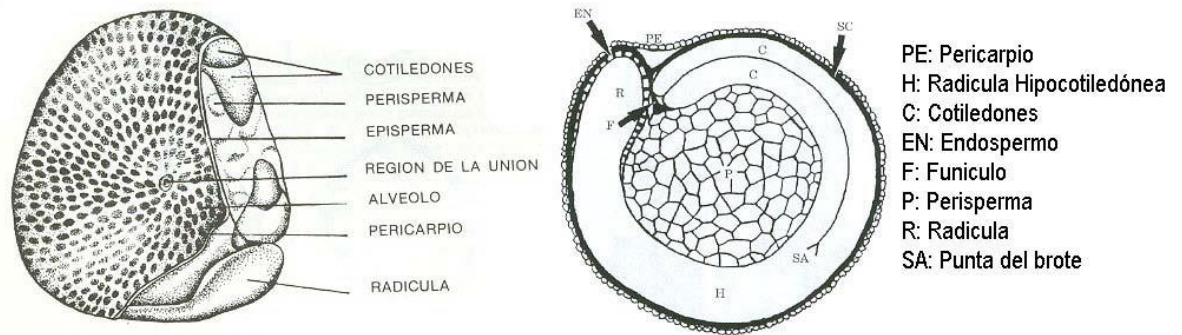
Fuente: Mujica *et al.*, (2001).

## b) Morfología del grano de quinua

El pericarpio está pegado a la semilla, presenta alvéolos que en algunas variedades se puede separar fácilmente. Pegada al pericarpio se encuentra la saponina, que le transfiere el sabor amargo a la quinua la semilla está envuelta por el epispermo en forma de una membrana delgada (Tapia *et al.*, 1979).

La proteína se encuentra principalmente en el embrión y en el endospermo de la semilla de quinua (Prego *et al.*, 1998).

El embrión está formado por un eje radícula hipocotiledónea (H) y dos cotiledones (C) y constituye la mayor parte de la semilla que envuelve al perisperma como un anillo. El perisperma es almidonoso y normalmente de color blanco (Tapia *et al.*, 1979).



**Figura 1:** Estructura del grano de quinua.

Fuente: (Prego *et al.*, 1998).

## c) Propiedades de la quinua

La quinua constituye un producto de excepcionales cualidades nutritivas que posee importancia internacional por ser alta en proteínas al compararlo con el resto de los cereales, pero el verdadero valor de la quinua está en la calidad de sus proteínas, es decir, en la combinación de una mayor

proporción de aminoácidos esenciales para la alimentación humana, que le otorgan un alto valor biológico (Zamudio, 2003).

Además la quinua posee alto contenido de vitaminas, especialmente C, E y del complejo B. También es rica en minerales como el hierro, fósforo, potasio y calcio (Albarran, 1993).

En relación al contenido total de lípidos es superior al de los cereales, representando aproximadamente del 5% al 9% de su peso, de esto, contiene alrededor de un 4% de ácidos grasos, sobresaliendo algunos esenciales como el linoleico y linolénico, los que comprenden del 55% al 63% del total de los lípidos de la quinua (Albarran, 1993).

El almidón es el mayor constituyente de este grano, con aproximadamente un 51% a 60% del peso de la semilla. Se localiza en las células del perisperma, que son de forma alargada bien definida (Albarran, 1993).

La composición en aminoácidos es de particular interés para el nutricionista, puesto que el valor nutritivo de una proteína depende primariamente de su patrón o perfil de aminoácidos (Braverman, 1980).

La quinua es reconocida por su alto valor nutritivo, destacándose especialmente su balance aminoacídico. En efecto, la quinua contiene 16 aminoácidos, 10 de los cuales son esenciales: histidina, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, valina y arginina, debiendo ser aportados por la dieta.

El contenido de lisina es importante en la harina de quinua, el que duplica el de otros cereales (aminoácido principal en legumbres), siendo también uno de los aminoácidos más escasos en los alimentos de origen vegetal. La quinua también es rica en metionina (aminoácido principal en

cereales), fuente principal de azufre y necesaria para el metabolismo de la insulina. Asimismo, es alta en arginina y ácido glutámico y tiene niveles adecuados de histidina, isoleucina, valina y treonina (Albarran, 1993).

**d) La saponina:**

Uno de los aspectos que atenta contra la reincorporación masiva de la quinua es la presencia de la saponina en los granos, la que da un sabor amargo al cereal por lo que requiere un procesamiento previo para su consumo. La eliminación de esta sustancia jabonosa se puede realizar en forma manual (lavando el grano con agua y frotándolo hasta que no salga espuma) o mecanizado (usando una peladora que pasa el grano por paletas friccionándolo contra una malla trenzada) (Sepúlveda *et al.*, 2004).

La desaponificadora de quinua quita la cáscara del grano aprovechando este componente para la industria cosmetológica y además, dada sus propiedades, puede ser empleada como ingrediente para la fabricación de cervezas y detergentes, como componente para la fabricación de extinguidores de incendios, en la industria fotográfica y en la industria farmacéutica (en la fabricación de hormonas sintéticas) (Fontúrbel, 2003; Sepúlveda *et al.*, 2004).

Por otra parte, la saponina le brinda una protección natural a la semilla que recubre al grano por completo, evitando de esta forma el ataque de polillas, gorgojos y otras plagas de almacén y, en el ámbito alimenticio, experiencias desarrolladas en el Perú indican que el consumo de quinua con residuos de saponina contribuiría a impedir la acumulación de colesterol en el cuerpo, por lo que habría una menor incidencia de problemas cardiacos (Jara, 2004).

#### **e) Producción orgánica:**

La agricultura orgánica es una forma sostenible de producción, promueve e incrementa la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo. Está basada en el uso mínimo de insumos externos y en métodos que reestablecen, mantienen, e incrementan la armonía ecológica. No utiliza plaguicidas, herbicidas ni fertilizantes químicos sintéticos, y en su lugar, se basa en desarrollar un suelo saludable, fértil y con rotaciones de cultivo apropiadas. De esta forma el predio se mantiene balanceado biológicamente con una gran variedad de insectos benéficos y otros organismos para actuar como predadores naturales para plagas de cultivo y un suelo lleno de microorganismos y lombrices para mantener su vitalidad. Si se requieren medidas de control directas para prevenir daños serios a los cultivos, existen diversos agentes de fuentes naturales y pueden utilizarse agentes de biocontrol (Koechlin, 2000).

El cultivo orgánico de la quinua ofrece granos de alta calidad, es decir, con cualidades nutricionales, de sanidad (sin plaguicidas ni elementos nocivos), de apariencia física y sabor que hacen que la quinua sea apreciada comercialmente (Sica, 2001).

Se le incorpora al suelo materia orgánica y mineral para que los microorganismos allí presentes asimilen los nutrientes y de esta manera puedan ser absorbidos por las raíces de la quinua, para propiciar su desarrollo y fructificación (Sica, 2001).

#### **f) Industria de la quinua**

Las amplias posibilidades de preparación de la quinua, permite ser usada en la industria alimenticia en expandidos, extruidos, concentrados proteicos, suplementos alimenticios, almidones, colorantes vegetales, leche, laminados, perlados, germinados, formulaciones de alimentos para bebés, hojas

líoofilizadas, fideos, harinas precocidas de colores naturales y variados, etc. Estos amplios usos transforman a la quinua en un producto fácilmente adaptable a los gustos y exigencias del consumidor (Sepúlveda *et al.*, 2004).

La capacidad que poseen los ácidos fuertes para hidrolizar las proteínas, transformándolas en aminoácidos y péptidos hidrosolubles de cadena corta, es aprovechada en la industria alimenticia para la preparación de hidrolizados de proteína a partir de materia vegetal. En este proceso se hidrolizan proteínas de varias fuentes vegetales mediante el agregado de ácido clorhídrico concentrado, por lo general en equipos de revestimiento de vidrio, y el producto es luego neutralizado mediante el agregado de álcali. La mezcla resultante de péptidos y aminoácidos es luego concentrada y comercializada en esta forma como hidrolizado de proteína. Estos productos se utilizan ampliamente en sopas y otros preparados alimenticios de naturaleza similar (Braverman y Berk, 1980). El concentrado de proteína puede ser usado como ingrediente en la industria alimenticia y así incrementar la calidad de éstos (Aluko y Monu, 2003).

Por otra parte, la agroindustria transforma este grano preferentemente en hojuelas y en harina (CIED, 2004). Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos en el artículo número 348 dice “El producto pulverulento proveniente de la molienda de otros granos (distinto al de trigo), será designado con la palabra harina, seguida de un calificativo que indique la o las especies de grano de la que provenga” (González, 2000), por lo tanto, se obtiene harina de quinua, un producto libre de gluten para ser consumida hasta por personas celiacas (alérgicas al gluten), que es utilizada además para enriquecer harinas en la elaboración de galletas, barritas, pasteles, batidos, spaghetti, etc. aportando un alto valor nutritivo, así se consigue elaborar alimentos altamente energéticos, naturales y sin colesterol. Es

considerada por la FAO y la OMS como un alimento único por su altísimo valor nutricional, mantiene sus cualidades nutritivas incluso en procesos industriales y es capaz de sustituir notablemente a las proteínas de origen animal.

Por último, se encontró que como subproducto del cultivo de la quinua, está el forraje para el ganado y la leña (Diario Pyme, 2003).

#### g) Principales variedades de quinua sembradas en el Perú

La quinua se clasifica en las siguientes categorías o ecotipos:

**Tabla 1:** Principales variedades de quinua sembradas en el Perú

<b>Variedades o ecotipos</b>	<b>Altitud (m. s. n. m.)</b>	<b>Color de grano</b>	<b>Sabor</b>	<b>Periodo vegetativo (dias)</b>
Blanca Junín	1,500-3,500	Blanco	Dulce	160-180
Rosada Junín	2,000-3,500	Blanco	Dulce	160-180
Nario Amarillo	800-2,500	Blanco	Dulce	180-200
Maranganí	800-3,500	Amarillo	Amarga	60-180
Quillahuaman INIA	800-3,500	Blanco	Semidulce	160-180
Tahuaco	1,500-3,900	Blanco	Semidulce	150
Kancolla	800-4,000	Blanco	Dulce	140-160
Cheweca	1,500-3,500	Amarillo	Dulce	150-180
Chucapaca	800-3,900	Blanco	Semidulce	150-160
Camiri	800-4,000	Blanco	Semidulce	150-160
Camacan II	800-4,000	Blanco	Semidulce	150-160
Rosada de Cusco	800-3,500	Blanco	Semidulce	160-180
Real	500-4,000	Blanco	Semidulce	110-130

Boliviana Jujuy	500-3,500	Blanco	Semidulce	100-120
Sajama	> 3,500	Blanco	Dulce	150-170
Blanca de Juli	---	Blanco	Semidulce	150-180
Mantaro	1,500-3,500	Blanco	Semidulce	---
Hualhuas	1,500-3,500	Blanco	Semidulce	---

Fuente: (AGROBANCO, 2013)

## 1.2.2. PROPIEDADES GENERALES DE LAS PROTEÍNAS

### 1.2.2.1. Proteínas

Las proteínas son conocidas como las macromoléculas más abundantes en las células, constituyen el 50 % de su peso seco, desempeñan un mayor número de funciones, de todos los seres vivos. Las proteínas tienen una estructura y conformación, que les permite desarrollar diferentes funciones en una célula viva (Byong, 2000).

Las proteínas están compuestas básicamente por carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno. Gran parte de ellas tiene azufre y algunas contienen compuestos adicionales, como por ejemplo las proteínas lácteas contienen fósforo, la hemoglobina y la mioglobina contienen hierro. Estos elementos químicos se agrupan para formar unidades estructurales llamadas aminoácidos, a los cuales se podrían considerar como los “ladrillos de los edificios moleculares proteicos”. Las proteínas son muy importantes en los alimentos, por sus diferentes propiedades nutricionales y funcionales (Vaclavik, 2002).

Las proteínas tienen carácter anfótero; es decir, se comportan como ácidos débiles frente a las bases y como bases débiles frente a los ácidos. El grupo amino es aceptor de protones y el grupo carboxilo dador de protones (Byong, 2000).



### **1.2.2.2. Clasificación de las proteínas**

La gran diversidad de proteínas y sus diferentes características son las principales causas para que su clasificación sea extensa. Los criterios más usuales están basados en la composición, la forma, solubilidad, función biológica o estructura tridimensional de las proteínas (Murray *et al.*, 1997).

La Tabla 2, presenta de forma más detallada las diferentes clasificaciones que pueden tener las proteínas (Murray *et al.*, 1997).

**Tabla 2: Clasificación de las proteínas**

Clasificación	Propiedades	Ejemplo
<b>A. Por su composición</b>		
1) Simple	Contiene solo aminoácidos	Insulina
2) Conjugada	Contiene una fracción no proteica	
a. Metaloproteínas	Pigmentos	Mioglobina, hemoglobina
b. Glucoproteína	Contiene carbohidratos	Inmunoglobulinas, fracción 7S de la soya, caseína k, mucina
c. Fosfoproteína	Contiene fósforo	Caseínas de la leche, flavoproteínas, pepsina
d. Lipoproteínas	Contiene lípidos	Lipopitelina de la yema del huevo
e. Nucleoproteínas	Contiene ácidos nucleicos	Virus, genes
<b>B. Por su forma</b>		
1) Globular	Esféricas u ovoides	Albumina de huevo
2) Fibrosa	Forman fibras de tejido conectivo	Colágeno
	Proteína de ligamentos y tendones	Elastina
	Pelo, lana, uñas, cuernos	Queratina
	Proteína muscular	Miosina y Actina
	Responsable de la coagulación de la sangre	Fibrinógeno
<b>C. Por su solubilidad</b>		
1) Albúmina	Solubles en agua y soluciones salinas.	$\alpha$ -Lactalbumina de la leche, ovoalbumina del huevo
2) Globulinas	Poco solubles en agua, solubles en sal. Salinas	Miosina del músculo, globulina del plasma
3) Histonas	Alto contenido de aminoácidos básicos No coagulan por el calor	Proteínas unidas a ácidos nucleicos
4) Gluteninas	Insolubles en agua y alcohol. Solubles en álcalis y ácidos débiles	Gluten del trigo
5) Prolaminas	Solubles en 70% de alcohol	Zeína del maíz, gliadina del trigo
6) Escleroproteínas	Insolubles en la mayoría de los solventes	Todas las proteínas clasificadas en B-2 en esta tabla
<b>D. Por su función</b>		
1) Estructural	Forma parte estructural del cuerpo	Proteínas clasificadas como B2
2) Enzimas	Catalizan reacciones	Lipasas, proteasas
3) Hormonas	Mensajeros químicos	Insulina, glucagón
4) Toxinas	Proteínas dañinas, generadas por microorganismos	Toxina botulínica
5) Anticuerpos	Proteínas protectoras elaboradas por el organismo	$\alpha$ -globulina de la sangre
6) Transporte de O <sub>2</sub>	Transporta O <sub>2</sub> de los pulmones a los tejidos	Hemoglobina
	Almacén de O <sub>2</sub> en el músculo	Mioglobina

Fuente: Anglemeir y Montgomery, 1982

### **1.2.2.3. Estructura y conformación proteica**

La estructura de las proteínas es muy compleja y única, está determinada por la conformación de los aminoácidos y la secuencia en la que se encuentran en la cadena. Para entender las funciones de las proteínas en los alimentos, particularmente a nivel molecular y los cambios que generan en las proteínas durante el procesado, es importante conocer las bases de la estructura proteica (Vaclavik, 2002).

#### **a) Estructura primaria**

La estructura primaria de las proteínas está conformada por la secuencia específica de aminoácidos, unidos por enlaces peptídicos. Las cadenas polipeptídicas presentan polaridad, debido a que en sus extremos hay un grupo  $\alpha$  - amino y un grupo  $\alpha$  – carboxilo. Para escribir la secuencia de aminoácidos se empieza desde el extremo amino terminal, debido a que, se considera que es el comienzo de la cadena polipeptídica (Berg *et al.*, 2004).

La secuencia específica de aminoácidos mediante enlaces covalentes permite identificarlos y diferenciar sus diferentes propiedades y funciones de una proteína, (Braverman, 1980).

#### **b) Estructura secundaria**

Se refiere a la organización tridimensional de los segmentos de una cadena polipeptídica, esta estructura mantiene enlaces no covalentes. La disposición espacial que adquiere la cadena polipeptídica depende de la orientación de los átomos  $-C-N-C\alpha-$  que se presentan de manera repetitiva y constituyen “el esqueleto” de las proteínas. (Blanco, 2007).

Los ángulos y longitudes de los enlaces indican las características más importantes del enlace peptídico y del esqueleto:

- a) En el enlace peptídico sus cuatro átomos y los dos átomos de carbono  $\alpha$  adheridos se encuentran en un mismo plano espacial y los grupos H y R de los carbonos  $\alpha$  se dirigen hacia fuera del plano.
- b) Se presenta un alineamiento trans de los dipolos, debido a que los enlaces C=O y N-H están en direcciones opuestas respecto al eje de enlace C-N.
- c) Debido a la orientación espacial y dada la configuración L de cada residuo, los grupos R de cada uno de los átomos de carbono  $\alpha$  se encuentran de una manera trans repetitiva (Bohinski, 1991).

Las principales estructuras secundarias de las proteínas son las hélices  $\alpha$ , las hojas plegadas  $\beta$  y otras estructuras presentes como, en la propina y el colágeno.

- **Hélice  $\alpha$ :** es una de las estructuras secundarias más frecuentes presentes en las proteínas. Una vuelta completa de la hélice cubre una distancia aproximadamente de 0.54 nm a lo largo del eje y requiere 3.6 restos aminoacídicos. Las cadenas laterales de los aminoácidos se encuentran en el exterior de la hélice. Su disposición es muy estable, debido a dos razones, primero porque no existe un amontonamiento de átomos, más entre los grupos R laterales de los aminoácidos; segundo por los dipolos C=O y N=H, que presentan una interacción dipolo-dipolo máxima, lo que genera una trama de puentes hidrógeno no cooperativos intracatenarios (Bohinski, 1991).
  
- **Estructura  $\beta$ :** la estructura más conocida es la hoja plegada, en la que intervienen todos los enlaces peptídicos componentes en los enlaces con hidrógeno. Cada residuo de aminoácido

cubre un espacio de 0.35 nm. En la estructura  $\beta$ , la cadena de polipéptidos se encuentra extendida, los puentes hidrógenos se pueden formar entre varias cadenas o dentro de una misma cadena. Las láminas  $\beta$  pueden ser paralelas cuando tienen la misma dirección (las dos son N – C o C – N) o láminas  $\beta$  antiparalelas, cuando van en dirección alternada. La estructura antiparalela es la más frecuente en las proteínas (Boyer, 2000).

- **Helicoidal al azar:** se refiere a una estructura secundaria desordenada o mal definida. Esta estructura se presenta cuando las cadenas laterales de los aminoácidos no permiten la formación de la hélice  $\alpha$  o la hoja  $\beta$ . Por lo general sucede con la prolina o en regiones muy cargadas dentro de la proteína. En una estructura secundaria se pueden encontrar los tres tipos de estructura en diferentes zonas a lo largo de la cadena, la cantidad de cada tipo de estructura secundaria va a depender de la secuencia de aminoácidos (Vaclavik, 2002).

### c) Estructura terciaria

La arquitectura total de la molécula proteínica determina la estructura terciaria, que se refiere a la organización tridimensional de una proteína completa. La disposición tridimensional se mantiene gracias a uniones e interacciones de las cadenas laterales de residuos aminoacídicos de los polipéptidos, como son: las uniones salinas, enlaces de hidrógeno, puentes disulfuro, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas (Teijón, 2006).

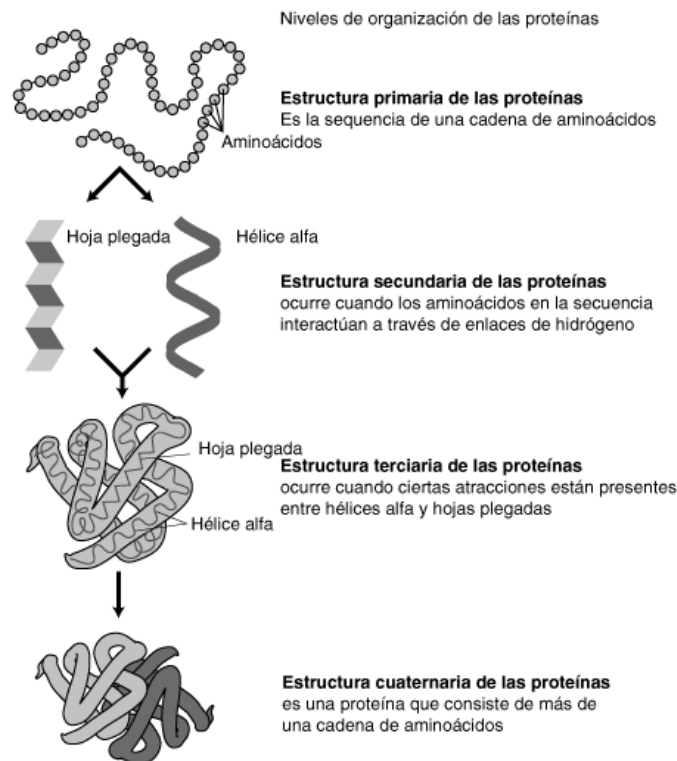
Los enlaces responsables del mantenimiento de la estructura terciaria son:

- **Enlace covalente:** consiste en una compartición de electrones, que generan un enlace fuerte, que permite brindar una gran estabilidad a la cadena proteica. El puente disulfuro, es uno de los enlaces más importantes, que se forma entre residuos de cisteína (Teijón, 2006).
  
- **Enlace iónico:** se refiere a un puente salino. Se puede presentar por dos grupos polares de la cadena de aminoácidos, que según el pH tendrán carga eléctrica positiva o negativa. Al formarse iones de carga opuesta estos se atraen por fuerzas eléctricas intensas, quedan fuertemente unidos y dan lugar a un compuesto iónico (Lehninger, 1981).
  
- **Enlace de hidrógeno:** las cadenas laterales de los aminoácidos que poseen hidrógeno fijo en oxígeno o nitrógeno, como sucede en los grupos alcohólicos de serina y treonina, pueden formar enlaces de hidrógeno con átomos ricos en electrones. La formación de enlaces hidrógeno generan estabilización de las moléculas y entre grupos polares sobre la superficie de las proteínas y el solvente acuoso aumentan la solubilidad de las proteínas (Harvey *et al.*, 2006).
  
- **Enlace por fuerzas de Van der Waals:** se forman entre las cadenas laterales que contienen radicales, son sumamente débiles y actúan en distancias extremadamente cortas, poseen componentes de atracción y repulsión. Las fuerzas de atracción son las que interaccionan entre dipolos inducidos formados por las oscilaciones instantáneas en la distribución de electrones en los átomos cercanos. En cambio, las fuerzas repulsivas se presentan, cuando 2 átomos se aproximan demasiado y sus orbitales electrónicos se superponen (Harvey *et al.*, 2006).

- **Presencia de cadenas hidrofóbicas:** Son interacciones que implican a las cadenas laterales no polares de los aminoácidos como leucina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano, etc., dentro de soluciones acuosas. En consecuencia, a lo largo de la o de las cadenas polipeptídicas donde se encuentran estos grupos existe la tendencia de segregarse del contacto con el solvente acuoso y a formar estructuras con características similares (Peña, 2004).

#### **d) Estructura cuaternaria**

El nivel cuaternario consiste en una asociación de dos o más cadenas polipeptídicas unidas solamente por fuerzas de atracción no covalentes entre los grupos R de la superficie de las cadenas. No existe formación de enlaces covalentes, como los puentes -S – S-, entre las diferentes cadenas. Las proteínas que pertenecen a este grupo se conocen como oligómeros (dímeros, trímeros, tetrámeros, etc.) y las cadenas individuales se llaman subunidades. Cuando las cadenas subunitarias son idénticas, la proteína es un oligómero homogéneo, si son diferentes, son oligómeros heterogéneos. Las interacciones que se presentan entre las subunidades pueden tener diferentes geometrías, lo que condiciona la simetría de la estructura cuaternaria de las proteínas (Bohinski, 1991).



**Figura 2:** Niveles de organización de las proteínas

**Fuente:** (Instituto Nacional de las Investigaciones del Genoma Humano, 2008)

#### 1.2.2.4. Desnaturalización

Una proteína nativa es aquella que posee todas sus propiedades biológicas características sin ninguna modificación, mientras que aquella que ha perdido sus propiedades se conoce como proteína desnaturalizada. La desnaturalización puede ser reversible o irreversible. Un ejemplo de desnaturalización irreversible, es la cocción de un huevo, la clara de huevo se coagula irreversiblemente. En cambio en la desnaturalización reversible se logra utilizar como reactivos la urea y el mercaptoetanol (Campbell, 2006). Entre los efectos de la desnaturalización se puede citar:

- El desbloqueo de los grupos hidrófobos, que puede causar el descenso de la solubilidad



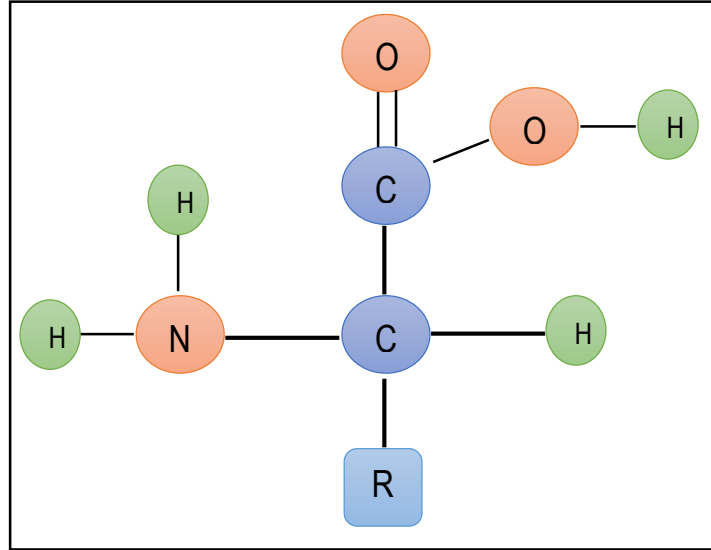
- La alteración de la capacidad de fijación de agua
- La pérdida de actividad biológica
- El aumento de la sensibilidad al ataque de las proteasas
- El aumento de la viscosidad intrínseca
- Su incapacidad a la cristalización (Cheftel *et al.*, 1989).

La desnaturalización es un proceso que se puede presentar, como resultado de los siguientes agentes: calor, frío, modificación de pH, fuerza iónica, cambios de la superficie y disolventes orgánicos.

Los cambios que produce la desnaturalización son generalmente ligeros, por ejemplo el tratamiento térmico, como la pasteurización o escaldado o pequeños cambios en el pH, son suficientes para alterar la conformación estructural de una proteína (Byong, 2000).

### **1.2.3. LOS AMINOÁCIDOS.**

Estos compuestos, como su nombre lo indica, son moléculas orgánicas, que contienen en su estructura un grupo amino ( $-NH_2$ ) y un grupo carboxilo ( $-COOH$ ), un átomo de hidrógeno y una cadena lateral, "R", enlazado al átomo de carbono denominado carbono  $\alpha$ . Los aminoácidos de mayor importancia son 20, que se encuentran como sillares de las proteínas, otros aminoácidos presentes biológicamente desempeñan otras funciones en las células (Lehninger, 1981). En las proteínas, los aminoácidos se combinan mediante enlaces peptídicos, ( $-CO-NH-$ ), en una reacción de condensación, que libera agua. En estos aminoácidos, el grupo amino primario ocupa la posición  $\alpha$ , con respecto al grupo carboxílico, como se observa en la Figura 3.



**Figura 3.** Estructura general de los aminoácidos

**Fuente:** (Cheftel *et al.*, 1989).

El enlace peptídico permite unir aminoácidos para formar péptidos o proteínas.

Los péptidos están formados por 2 a 100 aminoácidos. Si el número de aminoácidos es menor a 10, se denomina oligopéptido, cuando es mayor a 10 aminoácidos se denomina polipéptido. La unión de más de 100 aminoácidos da lugar a la formación de proteínas (Torún, 1985).

### 1.2.3.1. Clasificación de los aminoácidos

La clasificación de los aminoácidos según la polaridad de su cadena lateral R, permite ubicar a los aminoácidos en cuatro grupos (Lehninger, 1981).

#### a) Aminoácidos con grupos R no polares o hidrofóbicos

A este grupo pertenecen los aminoácidos con cadena lateral alifática (la alanina, la leucina, la isoleucina, la valina y la prolina), con anillos aromáticos (la fenilalanina y el triptófano), y el que contiene

azufre (la metionina). Son menos solubles en el agua que los aminoácidos polares (Cheftel *et al.*, 1989).

**b) Aminoácidos con grupos R polares sin carga**

Esta familia de aminoácidos tiene grupos funcionales neutros y polares, que pueden establecer enlaces de hidrógeno con el agua. La polaridad de la serina, treonina y tirosina se debe al grupo hidroxilo (-OH); la de la asparagina y glutamina, al grupo amida (-CO-NH<sub>2</sub>) y la de la cisteína, al grupo tiol (-SH) (Boyer, 2000).

**c) Aminoácidos con grupos R cargados positivamente (básicos)**

Los aminoácidos básicos son aquellos que su grupo R presenta carga positiva a pH 7.0. Todos tienen 6 átomos de carbono, están constituidos por la lisina, arginina y la histidina (Boyer, 2000).

**d) Aminoácidos con grupos R cargados negativamente (ácidos)**

A este grupo pertenecen los ácidos aspártico y glutámico, cada uno posee un segundo grupo carboxilo (COOH), ionizado negativamente a pH 6.0 a 7.0, que les confieren sus propiedades ácidas. Son solubles en agua (Lehninger, 1981).

**1.2.3.2. Propiedades ácido básicas de los aminoácidos**

Los aminoácidos son compuestos sólidos, incoloros, cristalizables, con puntos de fusión elevados (por encima de los 200 °C).

Son solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos como acetona, cloroformo y éter. El punto isoeléctrico (pI) es el pH en el cual la carga neta es cero. La mayoría de los aminoácidos presentan un carbono asimétrico, a excepción de la glicina, por lo cual tienen isómeros.

Los cuales se denominan D y L. La configuración D o L depende de la posición del grupo amino.

Los aminoácidos pueden comportarse como ácido o base y se denominan sustancias anfóteras (Lehninger, 1981).

### **1.2.3.3. Reacciones químicas**

En los aminoácidos existe tres principales reacciones orgánicas características de sus grupos carboxilo, amino y cadenas laterales. El conocimiento de estas reacciones es indispensable en varios aspectos importantes de la química de proteínas:

- La identificación y análisis de aminoácidos en los hidrolizados de proteína
- La identificación de la secuencia aminoacídica en las moléculas de proteínas
- La identificación de los restos aminoacídicos específicos de las proteínas nativas que se precisan para su función biológica
- La síntesis química de los polipéptidos (Byong, 2000).

### **1.2.4. PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS**

Las propiedades fundamentales de las proteínas vegetales, incluyen los aspectos nutricional y tecnológico. El primero es especialmente importante para los países con carencia proteica. De modo que deben cumplir con un buen valor nutricional, estar libres de todo contaminante o factor anti

nutricional, ser aceptadas por el consumidor y por consiguiente de gusto neutro y desde el punto de vista tecnológico son importantes sus propiedades funcionales (Guerrero, 1989).

La funcionalidad de una proteína puede ser comprendida de diferentes formas, por los investigadores, pero de una manera general, las propiedades de las proteínas denotan cualquier propiedad físico-química el cual afecta el procesamiento y comportamiento de las proteínas en los sistemas alimenticios, juzgados por los atributos de calidad del producto final. Esto refleja interacciones complejas entre la composición, estructura, conformación, propiedades físico-químicas de las proteínas por sí mismas, otros componentes alimenticios y la naturaleza del medio que los rodea en el cual estos están asociados o restringidos (Sosa, 2000).

Si las proteínas y aislados proteicos van a ser incorporados en alimentos, se necesita mayor información acerca de sus propiedades tecnofuncionales, como por ejemplo: Sensación al estímulo organoléptico: Color, sabor, olor, textura, sensación al gusto, etc.

Hidratación, Solubilidad, dispersabilidad, adsorción de agua, humectabilidad, hinchamiento, espesamiento, gelificación, reología, capacidad de retención de agua, sinéresis, viscosidad, formación de masa, etc. Surgimiento a la superficie: Emulsificación, formación de espuma, retención de aire, formación de película proteína/lípido, ligazón de sabor, estabilización, etc.

Textura estructural: Elasticidad, contextura arenosa, gomosidad, viscosidad, adhesión, ligazón, glutinosidad, gelificación, formación de fibra y masa, elasticidad, etc. Otras Compatibilidad con aditivos, enzimas, inertes, propiedades modificatorias.

Así la determinación sistemática de las propiedades tecnofuncionales debería ser hecha cuando se desarrolla nuevas fuentes proteicas, concentrados proteicos y aislados. Estos son requeridos para

evaluar y posiblemente ayudar a predecir, cómo las proteínas nuevas pueden obrar en sistemas específicos. (Sosa, 2000).

**a) Capacidad de retención de agua (CRA)**

Se determina la cantidad de agua necesaria para lograr un estado de saturación de la proteína (cantidad máxima de agua retenida, medida por centrifugación). En este método se mide tanto el agua ligada (agua de hidratación, no congelable) como el agua capilar, retenida físicamente entre las moléculas proteicas.

La concentración proteica, el pH, la temperatura, el tiempo, la fuerza iónica y la presencia de otros componentes afectan a las fuerzas que toman parte en las interacciones proteína-proteína y proteína-agua.

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 o repulsivas, de la proteína y modifican su aptitud para asociarse con el agua.

La fijación de agua por las proteínas desciende generalmente a medida que se eleva la temperatura, debido a la disminución de los puentes de hidrógeno. El calentamiento provoca la desnaturalización y la agregación, pudiendo esta última reducir el área superficial y el número de grupos amino polar disponible para fijar agua. Por otro lado, cuando se calientan proteínas con una estructura muy compacta, la disociación y el desplegamiento ocasionados pueden exponer enlaces peptídicos y cadenas laterales polares previamente ocultas, lo que aumenta la fijación.

El tipo y la concentración de iones ejercen un considerable efecto sobre la absorción de agua. Generalmente, se establece una competencia en la interacción entre el agua, la sal y las cadenas laterales de los aminoácidos. (Fennema, 2000).

#### **b) Capacidad de Emulsificación (CE)**

La Capacidad de emulsificación es el volumen de aceite que puede ser emulsificado por cada gramo de proteína, antes de que se produzca la inversión de fases. Las características de una emulsión y los resultados obtenidos en los dos tipos de ensayos mencionados se ven influidos por múltiples factores: tipo y geometría del equipo utilizado, intensidad del input de energía, velocidad de adición del aceite, volumen de la fase grasa, temperatura, pH, fuerza iónica, presencia de azúcares y agentes de superficie de bajo peso molecular, exposición al oxígeno, tipo de grasa, concentración de las proteínas solubles. (Fennema, 2000).

#### **c) Capacidad de Formación de Espuma (CFE)**

Según Badui (2006), la capacidad de formación de espuma es una propiedad de superficie, donde la proteína actúa como un agente tensoactivo, disminuyendo la tensión superficial en la interfase gas-líquido. La formación de espuma 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.

El poder espumante varía con el origen de la proteína, las condiciones del medio o el tratamiento eventual sufrido por proteína. Esta propiedad está relacionada con la tensión superficial e interfase.

La estabilidad de la espuma aumenta según las interacciones y rigidez de la película (estructura proteínica bien organizada). Una desnaturalización parcial es esencial para lograr buena estabilidad. A pH isoeléctrico, la película es viscosa, deformable, más compacta, por lo tanto, poco favorable para la formación de espuma. Las espumas alimenticias son, en general, formadas a pH lejano al punto isoeléctrico.

Los hechos experimentales indican que la formación de espuma y su estabilización requieren de propiedades muy poco diferentes. La formación de espumas indica la difusión de proteínas solubles hacia la interfase aire/agua, donde debe desdoblarse, concentrarse y extenderse rápidamente para así rebajar la tensión interfacial. Es bien conocido que las moléculas flexibles, pobres en estructura secundaria y terciaria actúan eficazmente como surfactantes. Un desdoblamiento previo de las proteínas globulares, gracias a un calentamiento moderado, la exposición a agentes desnaturalizantes o una proteólisis parcial, mejoran la orientación de la interfase y aumenta la capacidad espumante, siempre que el desdoblamiento no vaya acompañado de una agregación o de una pérdida de solubilidad.

Las propiedades espumantes son expuestas por dos factores denominadas capacidad de formación de espuma y estabilidad de espuma. La capacidad de formar espuma se determina midiendo el incremento de volumen por la espuma, al incluirse aire en la solución proteica (Sosa, 2000).



### 1.3. JUSTIFICACIÓN

La producción de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) en la región de Apurímac tuvo 2 575 t con participación de 3,86 % a nivel nacional en periodo 2104 manteniendo el crecimiento de campaña anterior, la transformación industrial es desaprovechado al desconocimiento de los equipos tecnológicos que lo podrían transformar y obtener derivados beneficiosos para la nutrición humana. En la actualidad la aceptabilidad del consumo es bajo por parte de las personas que tienen la intención de consumirla ya sea en platos preparados o como grano entero por la persistencia de saponina, el sabor sui géneris y el olor persistente aun después de ser procesado. Razón por la cual una forma de consumir e incrementar la aceptabilidad y potencializar el cultivo de quinua en la región es a través del uso como alimento funcional utilizándolo como fuente principal sus aminoácidos esenciales a través de un proceso de extracción de la proteína, ello permitiría el interés del uso como ingrediente alimenticio y que tenga mayor aceptabilidad en el consumo, los equipos tecnológicos para dicho fin de la extracción del aislado proteico es de fácil accesibilidad en el mercado.

El aislado de proteína de quinua sustituiría el aislado proteico de soya, insumo principal que en la actualidad es utilizado en la industria alimentaria para mejorar sus propiedades tecnofuncionales, debido a que la soya en la actualidad pertenece a los alimentos transgénicos mientras la producción de quinua en su mayoría es orgánica.

En la actualidad en el mercado provincial, regional y nacional de aislado proteico de quinua no se encuentra disponible para el uso industrial es por esta razón, que en este trabajo se encaró el estudio de la quinua una metodología de aislamiento de las proteínas que viabilice la extracción para la formulación en el procesamiento de los alimentos.

Debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales de proteína, la quinua es considerada como el único alimento del reino vegetal que provee todos los aminoácidos esenciales que se encuentran extremadamente cerca de los estándares de nutrición humana establecidos por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) (FAO, 2011).

La ventaja competitiva de quinua es su elevado valor nutricional, que constituye el punto de partida para la elaboración de productos con valor agregado.

En los trabajos científicos, la quinua tiene un perfil de aminoácidos mucho más completo que el de otros cereales como el trigo y del arroz. Esto se debe a que posee lisina, aminoácido ausente en los demás cereales, que ayudaría a complementar la alimentación. Este aminoácido es importante en el desarrollo de las células del cerebro, memorización, desarrollo de las capacidades intelectuales y el desarrollo corporal del humano.

Es aprovechar este recurso para solucionar problemas en el sector alimentario una fuente de proteína purificada para mejorar con adición como ingrediente los atributos del estímulo organoléptico en el sistema alimentario (salchichas, bebidas, productos horneados, helados y otros). Además la tendencia de la producción de quinua a nivel regional, nacional y mundial cada vez más es creciente lo cual mantiene sostenible para su obtención y comercialización del aislamiento de proteína de quinua.

Las ventajas de estos ingredientes proteicos es que permite su inclusión en formulaciones adecuadas a distintos requerimientos, ya sea para personas con alteraciones de salud específicas o proporcionando beneficios a personas con un alto nivel de colesterol o triglicéridos en sangre (Vioque *et al.*, 2001).

La adición como insumo en la elaboración de los alimentos pueda reducir el índice de desnutrición crónica y a la vez mejorar las propiedades organolépticas de los productos elaborados.

Es por ello pretende realizar este proyecto de investigación para darle un mayor uso e importancia de este pseudocereal "Aislamiento proteico y su determinación de las propiedades tecnofuncionales a partir de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de variedades Blanca Junín y Rosada Junín".

En cuanto al impacto ambiental el proceso de extracción del aislado proteico de quinua no genera efectos adversos contaminantes por lo que se utilizan soluciones químicas tales para solubilizar hidróxido de sodio y para precipitar proteínas ácido clorhídrico los cuales son fáciles de neutralización.  $\text{NaOH}(\text{al}) + \text{HCl}(\text{ac}) \longrightarrow \text{NaCl}(\text{ac}) + \text{H}_2\text{O}(\text{liq})$ . Para ello se puede acondicionar un pozo de depuración la instalación del mismo que no demanda recursos económicos altos.

## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Evaluar la influencia del pH alcalino y pH ácido en la extracción del aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín.

### **1.4.2. Objetivos específicos.**

- Extraer proteína a diferentes rangos de pH a partir de quinua de las variedades blanca Junín y rosada Junín.
- Realizar el análisis del perfil de aminoácidos de la proteína aislada de las variedades blanca Junín y rosada Junín.

- Determinar las propiedades tecnofuncionales del aislado proteico de quinua CRA, CE y CFE para su uso en los alimentos.

### **1.5. PROBLEMA**

¿De qué manera influye el pH en la extracción del aislado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades Blanca Junín y Rosada Junín?

### **1.6. HIPÓTESIS**

El acondicionamiento de pH alcalino y ácido influye en la extracción del aislado de proteína de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades Blanca Junín y Rosada Junín de acuerdo a la disociación en función a la concentración de ion hidronio e ion hidroxilo de la solución.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Lugar de ejecución

El desarrollo de la investigación se realizó en los laboratorios de química y control de calidad de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA), ubicada en la Av. 28 de julio Nro. 1102 del Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas del Región de Apurímac y en el Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), ubicada en la Av. La cultura Nro. 733, Cuso – Perú.

### 2.2. Material de estudio

Para la investigación se recolectaron los granos de quinua (*Chenopodium quinua Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín de 4 kilogramos de cada variedad del Centro Poblado de Cascabamba del distrito de Santa María, Provincia de Andahuaylas y Región Apurímac, posteriormente los granos han sido sometidos a la molienda luego separadas por tamices para su estudio del rendimiento de la extracción de proteína.

La zona de producción del centro poblado de Cascabamba está ubicado entre los 3500 y 3800 msnm cuyo clima de esta zona es templado y frígido de acuerdo a la variación climática y a las estaciones del año, las temperaturas varían entre los 5 y 20°C (PDC, MDSMCH, 2011).

### **2.2.1. Universo y/o Población**

Se consideró como universo y/o población a los granos de quinua (*chenopodium quinoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín, grano producido en el Centro Poblado de Cascabamba del Distrito de Santa María de Chicmo, Provincia de Andahuaylas, Región Apurímac.

### **2.2.2. Muestra**

Para obtener la muestra se realizó un muestreo simple al azar, esto consistió en seleccionar los granos de quinua sin ningún rastro de ataque de plagas, la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) de la variedad blanca Junín y variedad rosada Junín, una vez obtenido con esta característica se tomó la muestra al azar para ser investigado.

## **2.3. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIAL DE ESTUDIO DE LABORATORIO**

### **2.3.1. Equipos**

- ✓ Balanza analítica Cap. 200 g. adventurer OAHUS 220 V / 50 Hz
- ✓ Termómetro digital de -50/150°C Sonda fija acero inoxidable 120 mm longitud (150X58X20)
- ✓ Balanza digital de precisión cap. 100 g de sensibilidad 0.01 g ABS 200-4
- ✓ Molino de martillo de motor de inducción trifásico marca VOGES 12,5/9 hp/kw 1765 rpm
- ✓ Agitador magnético OVAN Velocidad ajustable desde 200 a 1.500 rpm.
- ✓ pH metro digital 730 Inolab Rango/exactitud de medición: pH: -2,000 a +19,999 / +/-0,003 pH
- ✓ Centrifuga de 4000 rpm LW-SCIENTIFIQUE
- ✓ Estufa MEMMERT/INB 400 UNB Capacidad 14L, procedencia Alemania

- ✓ Licuadora Capacidad: 1,25 l giratorio de 3 velocidades OSTER
- ✓ Cromatografía Líquida de Alta Resolución o *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) AGILENT.

### **2.3.2. Materiales**

- ✓ Probeta de vidrio de 50 ml marca kyntel
- ✓ Probeta de vidrio de 25 ml marca kyntel
- ✓ Bureta de vidrio de 25 ml marca fortuna
- ✓ Baguetas, pinzas S/M
- ✓ Balones de Kjeldahl de 100 mL
- ✓ Matraz Erlenmeyer de vidrio 250 ml marca Scott.
- ✓ Pro pipetas D&N.
- ✓ Pipetas volumétricas de 1 ml marca fortuna
- ✓ Pipetas volumétricas de 5 ml marca fortuna
- ✓ Vasos precipitados 100 ml marca fortuna
- ✓ Vasos precipitados 250 ml marca fortuna
- ✓ Pipetas volumétricas 10 ml marca fortuna
- ✓ Tubos de ensayo con rosca 10 ml de marca Scott.
- ✓ Espátula de acero inoxidable mango de madera
- ✓ Placa Petri marca fortuna
- ✓ Varilla de vidrio marca fortuna

- ✓ Embudo de vidrio
- ✓ Papel filtro.589/2 (Watman -40).
- ✓ Peseta S&S
- ✓ Mortero de pilón porcelana
- ✓ Gradilla para tubos de ensayo S/M
- ✓ Recipientes de almacenamiento (tinajas)
- ✓ Rotulador FABER-CASTELL
- ✓ Tamiz con malla de acero inoxidable N° 16 A.S.T.M 1190 Micrones zonytest
- ✓ Tamiz con malla de acero inoxidable N° 18 A.S.T.M 1000 Micrones zonytest
- ✓ Tamiz con malla de acero inoxidable N° 35 A.S.T.M 500 Micrones zonytest
- ✓ Tamiz con malla de acero inoxidable N° 40 A.S.T.M 420 Micrones zonytest
- ✓ Tamiz con malla de acero inoxidable N° 70 A.S.T.M 210 Micrones zonytest

### **2.3.3. Reactivos e insumos**

- ✓ Ácido clorhídrico (HCl) 1N, 5N p.a. Merck. Darmstadt, Germany
- ✓ Hidróxido de sodio (NaOH) al 35 % (p/v)
- ✓ Acetonitrilo (CH<sub>3</sub>CN) Panreac. Barcelona, Spain
- ✓ Metanol (CH<sub>3</sub>OH) p.a. Merck. Darmstadt, Germany
- ✓ Agua ultra purificada
- ✓ Éter de petrolium
- ✓ Fosfato de sodio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>\*H<sub>2</sub>O) p.a. Merck. Darmstadt, Germany



- ✓ Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 96 % (d=1.84) p.a Merck. Darmstadt, Alemania
- ✓ Indicador rojo de metilo (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)
- ✓ Metanol (CH<sub>3</sub>OH) p.a. Merck. Darmstadt, Germany
- ✓ Agua destilada pH 6,96 ± 0,12

#### **2.3.4. Material de estudio**

- ✓ Quinoa de variedad blanca Junín
- ✓ Quinoa de variedad rosada Junín

### **2.4. METODOLOGÍA**

#### **2.4.1. PREPARACIÓN DE LA HARINA DE QUINUA**

Los granos de (*Chenopodium quinoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín, se sometieron a la molienda y tamizado, obteniendo un material con tamaño de partícula menor, que permita mejorar el grado de extracción de la proteína.

#### **2.4.2. Caracterización físico química de la harina de quinua**

Se caracterizan la harina de quinua de las variedades blanca Junín y rosada Junín ya que es un factor la granulometría y el contenido de proteína de la muestra inicial.

#### 2.4.2.1. Caracterización física

Se determinó el análisis granulométrico, según la norma INEN 517, 1980-12, con 100 g de harina de quinua y se utilizó una serie de tamices con malla de acero inoxidable N° 16, 18, 35, 40 y 70 A.S.T.M. Al finalizar la prueba se determinó el porcentaje de material retenido en cada uno de los tamices.

Se determinó la densidad aparente, según el método 24.003 de la A.O.A.C. (2005), al pesar una cantidad de harina de quinua y se transfirió a una probeta de volumen conocido. El cálculo de la densidad aparente se realizó, según la siguiente relación:

$$\text{densidad aparente} = \frac{\text{peso de la muestra}(g)}{\text{volumen de la muestra}(ml)} \dots\dots\dots \text{ec. (2.1).}$$

#### 2.4.2.2. Caracterización química

La composición química de la harina quinua fue determinada con las técnicas de la A.O.A.C. (2005).

##### ➤ **Determinación de humedad**

En un recipiente enfriado y tarado, previamente calentado a  $130\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pesar unos 2 g de muestra. Poner la cubierta y someter la muestra durante 1 hora en un horno provisto de ventilación a una temperatura de  $130\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Transferir el recipiente con su cubierta al desecador y pesar poco después de llegar a la temperatura ambiente. La pérdida de peso es reportada como la humedad. Según Método 925.10 (A.O.A.C., 2005).

$$\% \text{Humedad} = \frac{(M-m) \cdot 100}{M} \dots\dots\dots \text{ec. (2.2).}$$

Donde:

M = Peso inicial en gramos de la muestra.

m = Peso en gramos del producto seco.

➤ **Determinación de proteínas**

La metodología empleada fue el método indirecto, El cual consiste en la destrucción orgánica por acción del ácido sulfúrico, obteniéndose como resultado sulfato de amonio, el cual después es destilado a amoniaco. Los cálculos se realizan en base a un patrón (muestra en blanco) y se cuantifica la diferencia gastada de titulante en la muestra (Referencia método AOAC. 960.52),

Cálculo y expresión de resultados:

$$\%N = \frac{N \times V \times 14 \times 100 \times \text{Factor}}{m \times 100} \dots\dots\dots \text{ec. (2.3)}.$$

Donde:

V = volumen gastado del ácido sulfúrico.

N = Normalidad del ácido sulfúrico.

m = peso de muestra en gramos.

Factor: 6,25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general.

5,85: para cereales y derivados de soya.

➤ **Determinación del contenido graso**

La determinación de grasas se realizó por extracción con éter de petróleo mediante el método de la AOAC. 945.16, Extracción de la grasa con un solvente orgánico (Éter de petróleo) en un equipo Soxhlet.

$$\%G = \frac{100 \times (P_1 - P_2)}{P} \dots\dots\dots \text{ec. (2.4)}.$$

Donde:

P<sub>1</sub> = Peso en gramos del matraz con el extracto etéreo.

P<sub>2</sub> = Peso en gramos del matraz vacío.

P = Peso en gramos de la muestra empleada.

➤ **Determinación de cenizas**

Se coloca en la mufla previamente calentada a 600 °C y mantener a esta temperatura por 2 horas, hasta que las cenizas adquieran un color blanco o grisáceo. Según Método 923.03 (A.O.A.C., 2005).al material inorgánico no destruido se le llama ceniza.

$$\%C = \frac{100*(P1-P2)}{P} \dots\dots\dots ec. (2.5).$$

Donde:

P = Peso en g de la cápsula con la muestra.

P1 = Peso en g de la cápsula con las cenizas.

P2 = Peso en g de la cápsula vacía.

➤ **Determinación de Carbohidratos**

La determinación de carbohidratos (C) fue obtenida por diferencia entre los demás componentes mediante la siguiente fórmula:

$$C=100-(Proteína + Grasa +Ceniza +humedad)\dots\dots\dots ec. (2.6).$$

Todos los componentes expresados en %. Sin embargo cabe recomendar el uso de métodos analíticos para su cuantificación.

**2.4.3. Método para la extracción del aislado proteico de quinua**

**a) Obtención de la harina desgrasada de quinua**

Las semillas de *Chenopodium quinoa Willd* fueron molidas en un molino de martillo luego se separa por tamices con malla de acero inoxidable N° 18 A.S.T.M 1000 Micrones, Tamiz con malla de acero

inoxidable N° 35 A.S.T.M 500 Micrones, tamiz con malla de acero inoxidable N° 40 A.S.T.M 420 Micrones y tamiz con malla de acero inoxidable N° 70 A.S.T.M 210 Micrones.

La fracción lipídica fue extraída en cuatro etapas sucesivas con solvente tipo éter de petróleo (P. Eb. 60-90 °C) en una relación de 3:1 de solvente: sólido. Esta harina se desolventizó a temperatura ambiente. Según método estandarizado (A.O.A.C., 2005).

#### **b) Solubilización de las proteínas en medio alcalino**

Según Ventura, (2003). Se suspende la harina de quinua en agua destilada (10 % p/v) luego se ajusta a pH alcalino de 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 y 10,5 con NaOH a 1 N para solubilizar las proteínas, se mantuvieron constantes la relación materia prima/solvente (1:10); temperatura 50 °C (Cheftel *et al.*, 1989), Empleando un equipo de baño maría y se agitó continuamente la solución durante 30 minutos, según desarrollado por Mustakas y Sohns (1976), quienes señalan que en este intervalo de tiempo el nitrógeno extraído aumenta constantemente. Luego la solución se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min.

El porcentaje de proteína extraída se define como la relación de la cantidad total de proteína en el extracto (mg) respecto a la cantidad total de la proteína del material del estudio (mg) expresado como un porcentaje.

#### **c) Recuperación de proteína precipitación ácido**

Según Ventura, (2003). El pH óptimo de recuperación de las proteínas fue determinado por una modificación del método de Guerrero (1989), se tomaron alícuotas de 25 ml del sobrenadante

obtenido previamente (de concentración de nitrógeno conocido) y se adicionó HCl 1N hasta alcanzar diferentes valores de pH a 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 y 5,5 para precipitar las proteínas, Las soluciones así obtenidas fueron centrifugadas a 4000 rpm x 30 min. Por consiguiente se lavó las proteínas aisladas con agua destilada luego se sometió en estufa a una temperatura de 50 °C, obteniéndose la cantidad de proteínas precipitadas las que fueron expresadas en porcentaje.

#### **2.4.4. Determinación de proteínas totales**

El porcentaje de proteínas se obtuvo por el método Kjeldahl, utilizando 5,85 (Scilingo *et al.*, 2002) como factor de conversión de nitrógeno a proteínas. La extracción proteico fue analizada por método Kjeldahl por método estandarizado (A.O.A.C., 2005), estos valores fueron ajustados a los datos de aminoácidos por gramo de muestra obtenidos en la cuantificación de aminoácidos por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), puede verse en el (anexo 03).

El porcentaje de proteínas o rendimiento de la fracción (PPi), se determinó por el siguiente cálculo.

$$PPi = \frac{\text{g de extracto proteico}}{\text{g de muestra}} \times 100 \dots \text{ec. (2.7).}$$

#### **2.4.5. Análisis del perfil de aminoácidos esenciales de la proteína extraída**

El análisis del perfil de aminoácidos consistió en la cuantificación de aminoácido esencial de *Chenopodium quinoa willd* variedad blanca Junín y variedad rosada Junín dicho análisis se realizó con el Método de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) descrita por (Agilent Zorbax Eclipse AAA, 2008). La metodología puede verse en el (anexo 04).

#### 2.4.6. Determinación de las propiedades tecnofuncionales del aislado proteico de quinua.

Para realizar la evaluación de las propiedades tecnofuncionales del aislado proteico de (*Chenopodium quinoa Willd*). Tiene las siguientes ecuaciones de acuerdo a la revisión de bibliografías.

##### A. Capacidad de retención de agua (CRA).

Se prepararon dispersiones proteicas al 1% p/v en buffer de pH 3, 4, 5, 7 y 9. Las muestras se sometieron cada 15 minutos a agitación intensa y breve en vortex durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador mecánico. Seguidamente los tubos se centrifugaron a 4000 rpm durante 30 minutos a 15 °C y se determinará la masa de precipitado obtenido. Se mide el volumen del sobrenadante después de centrifugar. Por diferencia entre el volumen inicial de agua y el que se recupera después de la centrifugación, se determina la capacidad de retención de agua expresada en ml/ g (Chau y Huang, 2003).

$$CRA = \frac{(M2 - (M1 - M3))}{M1 * D} \dots\dots\dots ec. (2.8)$$

CRA: Capacidad de retención de agua expresada en ml de agua por g de muestra.

M1: masa de muestra pesada en g.

M2: masa de precipitado obtenido en g.

M3: masa de la proteína soluble en g.

D: densidad del agua a 25 °C.

## B. Capacidad de Emulsificante (CE).

- Se preparó soluciones proteicas a las concentraciones de 0,4 % y 0,6 % con una solución de NaCl 1M. en 100 ml de agua.
- El pH de cada solución se ajustó a 4, 6 y 8 con una solución de HCl 1N o NaOH 1N.
- Cada solución será incubada a temperaturas ambientes por 30 min, las dispersiones fue agitadas a alta velocidad aproximadamente 4000 rpm por 1 min. en la licuadora.
- Posteriormente se añadió a la mezcla a una velocidad de 1ml/seg el aceite de maíz hasta quebrar la emulsión. Por consecuente se procedió a hacer el mismo procedimiento en la solución sin proteína (blanco)
- La CE fue calculada según la siguiente formula. Sathe y Salunkhe, (1981).

$$CE = \frac{\text{Aceite añadido (ml)} - \text{Aceite añadido blanco (ml)}}{100\text{ml solución}} \times 100 \dots \text{ec. (2.9)}$$

## C. Capacidad de Formación de Espuma (CFE)

- Se prepara soluciones proteicas en un volumen de 100 ml de 0,4; 0,6 y 0,8 % de aislado proteico de quinua con agua destilada, ajustando el pH a 4, 6 y 8 de cada solución proteica.
- Una vez ajustado el pH se procede a agitar en la licuadora a una velocidad de 6000 rpm por un tiempo de 3 minutos.  
Finalmente el batido se transfiere a una probeta graduada y se calculara el porcentaje de volumen incrementado a los 30 segundos, según la siguiente fórmula, Chau *et al.* (2003).

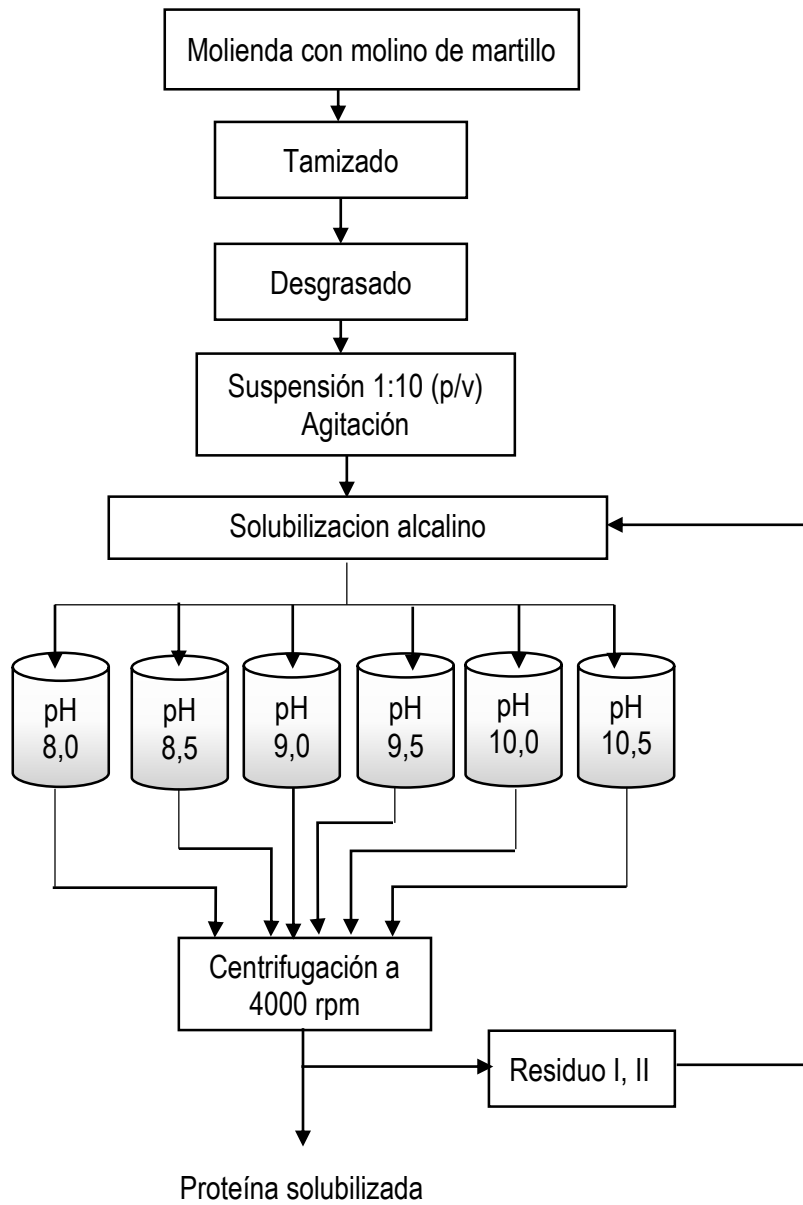
$$CFE (\%) = \frac{\text{Volumen después del batido} - \text{Volumen antes del batido}}{\text{Volumen antes del batido}} \times 100 \dots \text{ec. (2.10)}$$



## 2.4.7. Flujograma de la metodología de solubilización y extracción de proteína

### a) Solubilización de la proteína

*Chenopodium quinoa Willd* (variedad blanca Junín y rosada Junín)



**Figura 4:** Flujograma de proceso para la solubilización de proteína

## Descripción de las operaciones para solubilización de la proteína

Para procesar la materia prima se siguió las siguientes etapas:

- ✓ **Recolección de granos:** Los granos de *Chenopodium quinoa Willd* de las variedades blanca Junín y rosada Junín.
- ✓ **Limpieza:** Se limpió los granos en forma manual retirando impurezas; ramas, palos.
- ✓ **Lavado:** Se realizó en forma manual retirando las saponinas presentes en los granos de quinua. El lavado se hizo con agua fría hasta liberar las saponinas del grano de quinua (hasta no observar espuma).
- ✓ **Secado:** Se procedió a secar en una estufa a 30 °C.
- ✓ **Molienda:** Se efectuó en un molino de martillo hasta obtener una harina en condiciones para el estudio.
- ✓ **Tamizado:** se procedió en separarlo con tamiz de 500 µm en donde se concentra la mayor cantidad de proteínas.
- ✓ **Desgrasado:** para evitar interferencias provocadas por los lípidos se realizó una extracción sólido – líquido en un equipo Soxhlet, con éter de petróleo 20 – 40 como solvente posteriormente se realiza el secado en una estufa a 40 °C por 1,5 a 2 horas, obteniéndose harina seca y desgrasada.
- ✓ **Suspensión y agitación:** Suspender la harina desgrasada en agua destilada (10 % p/v) y agitar por 30 min a 50 °C (agitador magnético).

- ✓ **Solubilización alcalina:** se ajusta a pH alcalino de 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 y 10,5 con NaOH 1N para solubilizar las proteínas, agitar la suspensión por 60 min a temperatura 50 °C y separar los componentes insolubles.
- ✓ **Centrifugación I:** Seguidamente centrifugar a 4000 rpm por 30 minutos, de modo separar líquido (sobrenadante) y la parte sólida (residuo I), lo cual es nuevamente resuspendida en agua destilada (con la mitad del volumen inicial de la 1ra extracción) y alcalinizada a los pH correspondientes con NaOH 1N procediéndose a la segunda extracción alcalina, del material de partida.
- ✓ **Proteína solubilizada:** es la proteína en suspensión líquida separada de la materia insoluble en la solución de NaOH a 1N.

b) Proceso de la extracción de la proteína

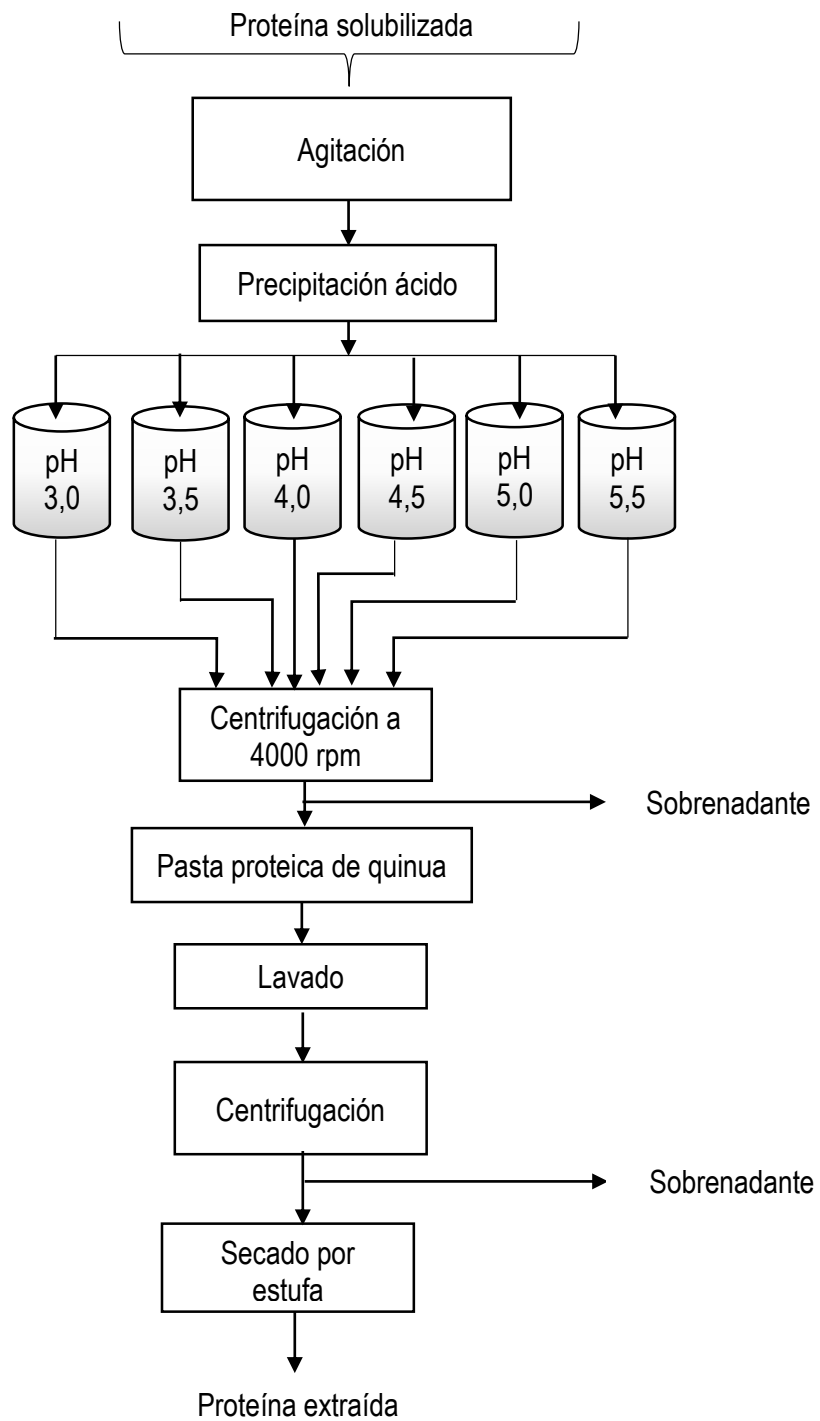


Figura 5: Flujograma de proceso de la extracción de proteína

### Descripción de las operaciones para la extracción de proteína

- ✓ **Proteína solubilizada:** es el material líquida de partida para la precipitación de la proteína.
- ✓ **Agitación:** se realizó por 15 min a temperatura ambiente con agitador magnético para acondicionar a pH de precipitación.
- ✓ **Precipitación ácido:** Ajustar el pH del sobrenadante a pH 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 y 5,5 para precipitar las proteínas, con solución de HCl 1N.
- ✓ **Centrifugación II:** centrifugar a 4000 rpm por 30 min, para separar la parte líquida (agua) y sólido (extracto proteico).
- ✓ **Pasta proteica de quinua:** la parte sólida una vez centrifugada y lavada las proteínas aisladas con agua destilada.
- ✓ **Lavado:** procede a lavar dos veces con agua destilada con el propósito de limpiar el ácido.
- ✓ **Centrifugación:** se procede a centrifugar para separar la proteína de la suspensión líquida (agua) al ser lavada.
- ✓ **Secado:** se procede a una temperatura de 50 °C en estufa, para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría.
- ✓ **Proteína extraída:** es la muestra obtenida con porcentaje de rendimiento.

c) Proceso del análisis del perfil de aminoácidos

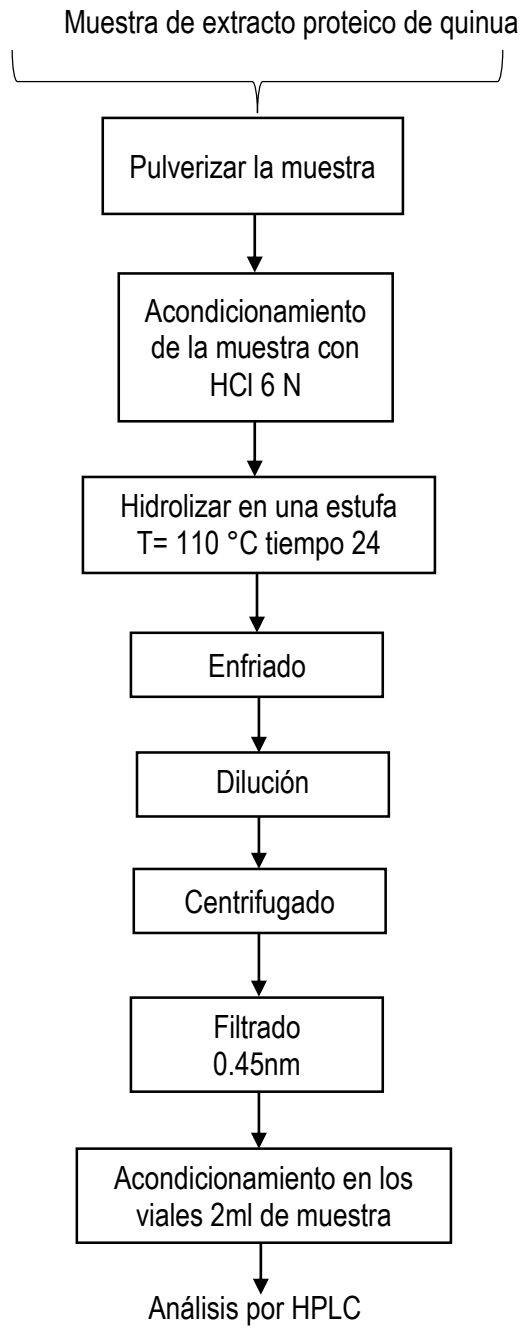


Figura 6: Flujo de operaciones para el análisis cromatógrafo-HPLC.

### Descripción de las operaciones para el análisis de aminoácidos en el HPLC

- ✓ **Pulverización de las muestras:** Todas las muestras son pulverizadas con mortero hasta obtener una harina fina una cantidad de dos gramos cada muestra codificada respectivamente.
- ✓ **Acondicionamiento de la muestra:** La muestra pulverizada es diluido con HCl 6N, en los viales de 20 ml. En una proporción de 1:10 respectivamente, finalmente se selló los viales en atmosfera inerte.
- ✓ **Hidrólisis:** Se realiza en una estufa a una temperatura de 110 °C por 24 horas.
- ✓ **Enfriado:** Es expuesto a temperatura ambiente para un enfriado lento.
- ✓ **Dilución:** Una vez enfriado se toma 3 ml de la muestra hidrolizada y se deposita en un tubo de ensayo al que se le adiciona 5 ml de agua destilada.
- ✓ **Centrifugado y filtrado:** La dilución fue centrifugada a 4000 por 15 minutos con la finalidad de separar la materia líquida del sólido el que posteriormente se filtró a 0.40 nm obteniendo finalmente una concentración de proteínas de *Chenopodium quinoa Willd* de las 2 variedades de estudio.
- ✓ **Acondicionamiento en viales:** La concentración obtenida se alistó en los viales de color ámbar cada uno con 2 ml, que se colocaron en la cámara de lectura del HPLC.
- ✓ **Análisis de aminoácidos en HPLC:** Se realiza la lectura de los aminoácidos del extracto proteico de *Chenopodium quinoa Willd* de las variedades en función a los aminoácidos estándar. Por un tiempo de 55 minutos a una temperatura de 40 °C.

## **2.5. ANALISIS ESTADISTICO PARA LA COMPARACION DE DATOS**

### **2.5.1. Análisis estadístico**

En la investigación los resultados se procesaron estadísticamente mediante el Diseño en Bloques Completos al Azar (DBCA), en donde las corridas experimentales se realizaron en orden aleatorio completo, con 3 repeticiones por tratamiento.

### **2.5.2. Diseño de bloques completos al azar DBCA**

Diseño en Bloques Completos al Azar (DBCA), Considera el efecto de un factor por bloques que a su vez están constituidos por tratamientos, el diseño se utilizó en esta investigación ya que el factor directo que interviene para la extracción del aislado de proteico es el pH alcalino y pH ácido con diferentes rangos denominados tratamientos. La distribución de los tratamientos se realiza aleatoriamente entre todas las unidades experimentales de *Chenopodium quinoa Willd* (quinua) variedad blanca Junín y rosada Junín.

La palabra *completo* en el nombre del diseño se debe a que en cada bloque se prueban todos los tratamientos, o sea, los bloques están completos. La aleatorización se hace dentro de cada bloque; por lo tanto, no se realiza de manera total como en el diseño completamente al azar. El hecho de que existan bloques hace que no sea práctico o que incluso sea imposible aleatorizar en su totalidad (Gutiérrez y De la Vara, 2008).



### Modelo estadístico

Es el resultado del efecto del tratamiento donde se encuentra, del efecto del bloque al que pertenece y de cierto error que se espera sea aleatorio. El modelo estadístico para este diseño está dado por:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \gamma_j + \varepsilon_{ij} \quad \left\{ \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, b \\ j = 1, 2, \dots, b \end{array} \right.$$

Donde  $Y_{ij}$  es la medición que corresponde al tratamiento  $i$  y al bloque  $j$ ;

$\mu$ : es la media global poblacional;  $t_i$  es el efecto debido al tratamiento  $i$ ,  $\gamma_j$  es el efecto debido al bloque  $j$ , y  $\varepsilon_{ij}$  es el error aleatorio atribuible a la medición  $Y_{ij}$ . Se supone que los errores se distribuyen de manera normal con media cero y varianza constante  $\sigma^2$

$[N(0, \sigma^2)]$ , y que son independientes entre sí.

### Hipótesis a probar

La hipótesis de interés es la misma para todos los diseños comparativos, y está dada por:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$$

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j \text{ para algún } i \neq j$$

La cual se puede escribir en forma equivalente como:

$$H_0: t_1 = t_2 = \dots = t_k = 0$$

$$H_A: t_i \neq 0 \text{ para algún } i.$$

Donde  $t_i$  es el efecto del tratamiento  $i$  sobre la variable de respuesta. Si se acepta  $H_0$  se confirma que los efectos sobre la respuesta de los  $k$  tratamientos son estadísticamente nulos (iguales a cero), y en caso de rechazar se estaría concluyendo que al menos un efecto es diferente de cero.

En cualquiera de estas hipótesis la afirmación a probar es que la respuesta media Poblacional lograda con cada tratamiento es la misma para los k tratamientos, y que por tanto cada respuesta media  $\mu_i$  es igual a la respuesta media global poblacional,  $\mu$ . De manera alternativa, se puede afirmar que los efectos de tratamientos sobre la variable de respuesta son nulos, porque cuando el efecto  $T_i = \mu_i - \mu = 0$ , entonces necesariamente la respuesta media del tratamiento es igual a la media global ( $\mu_i = \mu$ ).

### **2.5.3. Análisis de Varianza (ANOVA) en DBCA**

El análisis de varianza (ANOVA), consiste en analizar los cocientes de las varianzas para probar la hipótesis de igualdad o desigualdad entre las medias debidas a los tratamientos y los bloques, separando la variación total en las partes con que contribuye cada fuente de variación. Las fuentes de variación principales son las debidas a los tratamientos, a los bloques y las debidas al error.

### **2.5.4. Comparación de parejas de medias de tratamiento en el DBCA**

Cuando se rechaza la hipótesis de igualdad de los cuatro tratamientos en ANOVA, es natural preguntarse cuáles de ellos son diferentes entre sí. Para averiguarlo se utiliza comparaciones o pruebas de rango múltiples se utilizó el método LSD o Fisher, ya que este método a diferencia del tukey permite detectar los errores más mínimos cometidos en un experimento. El problema es probar la igualdad de todos los posibles pares de medias con la hipótesis:

$$H_0: \mu_i = \mu_j$$

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j$$

### **Hipótesis estadística experimental de prueba**

Por lo cual se plantea la hipótesis para las dos fuentes de variabilidad

$H_0$ : los rangos de pH en la obtención del aislado proteico de quinua no presenta influencia significativa entre los tratamientos por lo tanto. ( $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots = \mu_8$ )

Dicho de otro modo.

Si el P valor del pH es mayor a 0,05 entonces el pH no influye en la obtención del aislado proteico de quinua.

$H_A$ : los rangos de pH en la obtención del aislado proteico de quinua, son diferentes entre los tratamientos, por lo menos dos de ellos si influyen. ( $\mu_i \neq \mu_j$ ) para algún  $i \neq j$

Dicho de otro modo.

Si el P valor del pH es menor a 0,05 entonces el pH si influye en la obtención del aislado proteico de quinua.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1. RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA DE LA HARINA DE QUNUA

##### 3.1.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

###### A. Análisis granulométrico

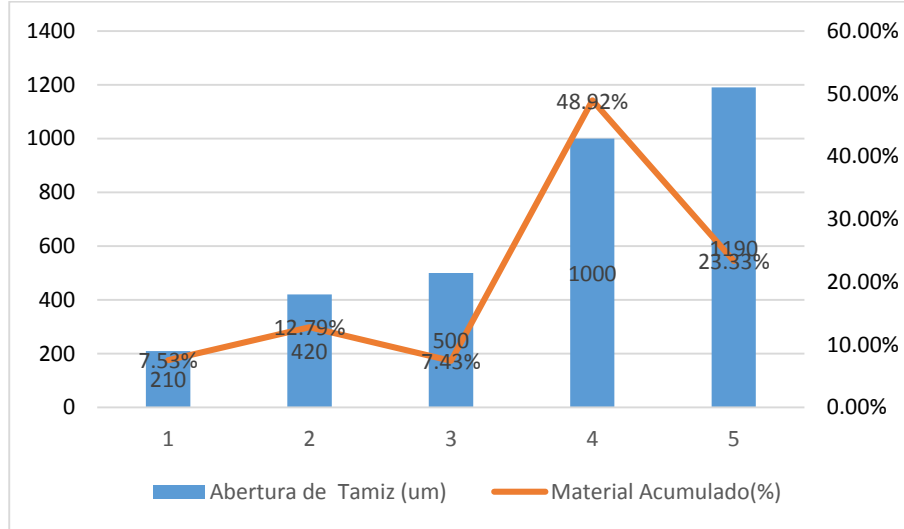
La granulometría de la harina para el trabajo se realizó la separación por gravimetría mediante los tamices con diferentes aberturas como se muestra la figura (7) y la figura (8), para el trabajo se seleccionó el tamiz de 500  $\mu\text{m}$  debido a que se concentra la mayor cantidad de del germen de quinua variedad blanca Junín, mientras con el tamiz de 210  $\mu\text{m}$  se obtiene el almidón de quinua lo cual se puede aprovechar el uso en otros productos horneados.

La distribución de las proteínas entre los diversos tejidos que constituyen el grano no es uniforme, las concentraciones mayores se encuentran en las capas más externas del endospermo, en la aleurona y en el germen. Tampoco se distribuyen uniformemente los diferentes tipos de proteínas, las prolaminas y las glutelinas se encuentran localizadas principalmente en el endospermo; las albúminas y globulinas están en las cubiertas exteriores y en el germen (Primo, 1997).

**Tabla 3:** Granulometría de la harina de quinua variedad Blanca Junín

	Malla A.S.T.M. N°	Abertura de Tamiz ( $\mu\text{m}$ )	Material Acumulado (g)	Material Acumulado (%)
1	70	210	150,00	7,53%
2	40	420	255,00	12,79%
3	35	500	148,00	7,43%
4	18	1000	975,00	48,92%
5	19	1190	465,00	23,33%

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 7:** Perfil granulométrico de la harina de quinua variedad blanca Junín

En la Figura (7), presenta el perfil granulométrico de la harina de quinua variedad blanca Junín, lo cual se determinó el material retenido en los tamices descritos en la metodología.

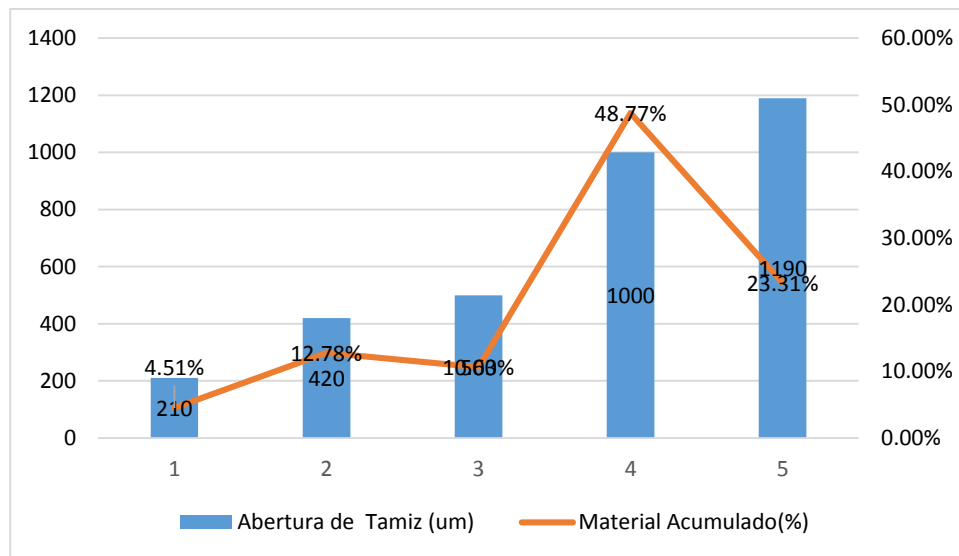
El 23,33 % de la harina de quinua tiene un tamaño menor a 1410  $\mu\text{m}$ , el 48,92 % una granulometría menor a 1000  $\mu\text{m}$ , el 7,43 % de la harina de quinua tiene un tamaño menor a 500  $\mu\text{m}$ .

El 12,79 % de la harina de quinua tiene un tamaño menor a 420  $\mu\text{m}$  y el 7,53 % de la harina de quinua tiene un tamaño menor a 210  $\mu\text{m}$ , lo que indica que este tipo de molienda da como resultado una harina fina, debido a que las harinas con partículas de tamaño menor a 212  $\mu\text{m}$ , son consideradas harinas finas (Sandoval *et al.*, 2005).

**Tabla 4:** Granulometría de la harina de quinua variedad Rosada Junín

	Malla A.S.T.M. N°	Abertura de Tamiz (um)	Material Acumulado (g)	Material Acumulado (%)
1	70	210	90,00	4,51%
2	40	420	255,00	12,78%
3	35	500	212,00	10,63%
4	18	1000	973,00	48,77%
5	19	1190	465,00	23,31%

**Fuente:** elaboración propia, laboratorio de panificación UNAJMA



**Figura 8 :** Perfil granulométrico de la harina de quinua variedad rosada Junín

De modo igual la granulometría de la harina de quinua para el trabajo se realizó la separación por gravimetría del material retenido como se muestra la figura (8), de todos los tamices se seleccionó el tamiz de 500  $\mu\text{m}$  por lo que se concentra la mayor cantidad de germen de quinua variedad rosada Junín, mientras con el tamiz de 210  $\mu\text{m}$  se obtiene el almidón de quinua lo cual se puede aprovechar el uso en otros productos horneados.

## B. Densidad

Para obtener mayor extracción de proteína se procede evaluar la densidad de la muestra de ambos variedades de acuerdo al cálculo mencionado en metodología.

La densidad aparente de la harina de quinua variedad blanca Junín es de 0,75 g/ml.

La densidad aparente de la harina de quinua variedad rosada Junín es de 0,73 g/ml.

### 3.1.2. caracterización química

Los resultados del análisis proximal de las muestras del germen de quinua (Tabla 5) nos muestran que los porcentajes de proteína para las variedades consideradas, contienen un porcentaje alto de carbohidratos y entran dentro de los rangos de composición obtenidos en la bibliografía. Los porcentajes de cenizas y materia grasa también están dentro del rango de los datos bibliográficos. La variación dentro de los rangos dados por bibliografía puede deberse al lugar de procedencia de la materia prima (altura, características fenológicas de la variedad, condiciones de humedad relativa del ambiente, contenido de sales y pH de los suelos, etc., factores que no entran dentro de los objetivos del presente estudio.

**Tabla 5:** Composición proximal del germen de quinua

COMPOSICION PROXIMAL%		
	Variedad Blanca Junín	Variedad Rosada Junín
Humedad	11,26 +/- 0,01	12,72 +/-0,01
Proteína	15,81 +/- 0,05	16,62 +/- 0,05
Grasa	6,20 +/- 0,20	6,32 +/- 0,20
Ceniza	4,38 +/-0,01	4,43 +/- 0,02
Carbohidratos	62,35 +/- 0,3	59,91 +/- 0,3

**Fuente:** laboratorio de química UNSAAC, 2014

Para el estudio la composición proximal de quinua variedad blanca Junín la Humedad fue 11,26 %, Proteína 15,81 %, Grasa 6,20 %, Ceniza 4,38 % y Carbohidratos 62,35 %.

Para el estudio la composición proximal de quinua variedad rosada Junín la Humedad fue 12,72 %, Proteína 16,62 %, Grasa 6,32 %, Ceniza 4,43 % y Carbohidratos 59,91 %.

Mientras los valores con otros estudios realizados para medir el contenido proteico de la quinua, se tiene: 13% (Schmidt *et al.*, 1992); 13,81 % (Tapia *et al.*, 1979); 13,5 % (Ogungbenle, 2003); 13,7% (Chauhan, 1992); 13,4-18,5% (Pino, 1998); 11-13 % (en quinua Chilena), 12-14 % (en quinua peruana) (Pino, 1998)., entonces, se observa que la cantidad de proteína encontrada para la harina de quinua está dentro de las referencias citadas. La cantidad de proteína varía de acuerdo a la localidad en que se desarrolla el cultivo, fecha en que se realiza la siembra y variedad del grano (Pino, 1998). Además, estudios demuestran que el porcentaje de proteína en la semilla aumenta al existir una menor cantidad de almidón, el que es acumulado según la fecha en que se siembre el grano debido a factores climáticos, y además se sabe que, al aumentar la temperatura ambiental en los cultivos disminuye la tasa de síntesis proteica (Pino, 1998).

### **3.2. RESULTADOS DE LA EXTRACCION DE PROTEINA A DIFERENTES RANGOS DE pH DE (*Chenopodium quinoa Willd*) DE LAS VARIEDADES BLANCA JUNÍN Y ROSADA JUNÍN**

A continuación muestran los resultados de la extracción de la proteína de quinua por cada variedad en estudio.



### **3.2.1. Resultados de la proteína extraída de (*Chenopodium quinoa Willd*) de variedad blanca**

#### **Junín.**

La extracción de la proteína de quinua en suspensión harina – agua 1:10 (p/v), acondicionado en medio alcalino pH 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 y 10,5 para la solubilización de proteína y se ajusta en medio ácido a pH 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 y 5,5 para precipitación proteico, se obtienen los resultados de la extracción de aislado proteico en la tabla 6 con la eliminación de la materia insoluble en condición de medio alcalino. Las réplicas de los datos de la investigación muestran en el (anexo 05).

**Tabla 6: Resultados de la proteína extraída de quinua variedad blanca Junín**

Tratamientos	pH solubilización	pH precipitación	muestra (g)	aislado proteína en (g)	Rendimiento de aislado proteico (%)
T1	8,0	3,0	5,942	2,056	30,18
T2	8,0	3,5	5,912	2,099	31,93
T3	8,0	4,0	5,816	2,098	32,37
T4	8,0	4,5	5,909	2,063	31,62
T5	8,0	5,0	6,304	2,102	29,98
T6	8,0	5,5	6,281	2,111	30,37
T7	8,5	3,0	6,919	2,510	33,77
T8	8,5	3,5	6,859	2,493	34,08
T9	8,5	4,0	6,997	2,829	37,40
T10	8,5	4,5	6,807	2,769	37,80
T11	8,5	5,0	7,178	2,483	31,88
T12	8,5	5,5	6,989	2,664	34,17
T13	9,0	3,0	3,426	0,951	27,58
T14	9,0	3,5	3,426	1,069	31,00
T15	9,0	4,0	3,426	1,111	32,19
T16	9,0	4,5	3,426	1,068	30,95
T17	9,0	5,0	3,790	0,968	26,45
T18	9,0	5,5	3,790	0,929	25,41
T19	9,5	3,0	3,356	0,845	25,18
T20	9,5	3,5	3,356	0,904	26,93
T21	9,5	4,0	3,356	1,003	29,88
T22	9,5	4,5	3,356	1,149	34,24
T23	9,5	5,0	3,356	1,136	33,85
T24	9,5	5,5	3,356	1,017	30,29
T25	10,0	3,0	3,385	0,498	14,71
T26	10,0	3,5	3,385	0,569	16,79
T27	10,0	4,0	3,385	0,643	18,95
T28	10,0	4,5	3,385	0,681	20,11
T29	10,0	5,0	3,385	0,668	19,73
T30	10,0	5,5	3,385	0,648	19,11
T31	10,5	3,0	3,351	0,791	22,92
T32	10,5	3,5	3,351	0,837	24,18
T33	10,5	4,0	3,351	0,870	25,59
T34	10,5	4,5	3,351	0,763	21,96
T35	10,5	5,0	4,467	0,775	16,86
T36	10,5	5,5	4,467	0,812	17,84

Fuente: elaboración propia

Los resultados de la extracción de proteína que se muestra en la (tabla 6) es el promedio de las réplicas de quinua variedad blanca Junín. En donde indica el rendimiento de la extracción proteica y el mayor rendimiento es el T10 acondicionado a pH 8,5 de solubilización y pH 4,5 de precipitación proteica obteniendo rendimiento de 37,80% del extracto de aislado proteico y a la vez se puede observar la muestra con menor rendimiento entre todo los tratamientos esto es el T25 en condiciones a pH 10,0 de solubilización y pH 3,0 de precipitación proteica obteniendo 14,71% del extracto de aislado proteico.

- El pH alcalino acondicionado para la solubilización proteica rendimientos en la extracción del aislado proteico entre los niveles de pH alcalino detalla como sigue:
- La solubilización proteica a pH 8,0 con pH de precipitación proteica el rendimiento es 32,37% de extracción del aislado proteico.
- La solubilización proteica a pH 8,5 con pH de precipitación el rendimiento es 37,80% de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 9,0 con pH de precipitación el rendimiento es 32,19 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 9,5 con pH de precipitación el rendimiento es de 34,24 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 10,0 con pH de precipitación el rendimiento es de 19,11 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 10,5 con pH de precipitación el rendimiento es 25,59 % de extracción del aislado proteico.

En los estudios de la extracción de aislado proteico de soya, obtiene el mejor rendimiento en las condiciones de medio alcalino para la solubilización a pH 9,5 y precipitación en el punto isoeléctrico 4,5; obteniendo el rendimiento de aislado de 24,55 %, con respecto a la harina desengrasada de soya, debiendo a la eliminación de carbohidratos solubles e insolubles. (Ávila, 2011). A partir de harina de quinua desengrasada con  $12,7 \pm 0,4$  % de proteína, se obtuvo un aislado proteico solubilizando las proteínas a pH 9, lo cual se obtuvo un aislado proteico con un contenido de proteínas del 77,2 % en la VI región chile (Rivera, 2006).

Para la extracción del aislado proteico de nuez marañón en las diferentes etapas del proceso de obtención del aislado proteico. En condiciones a pH alcalino (9,0) y precipitación a pH 4,5. Se logró obtener rendimiento del obtención de aislado proteico de 55,35 % obtenido por secado en estufa al vacío y el 56,43 % en el secado por atomizado. (Ventura, 2003).

De la harina de tarwi deslupinizada obtuvo rendimiento de 33,6 % en la extracción de concentrado proteico. (Villaverde, 2011), sin embargo para el aislado proteico a partir de tarwi (*lupinus mutabilis*) el rendimiento de obtención fue de 35 %, (Urrutia, 2010).

Finalmente la extracción del aislado proteico de *Chenopodium quinua Willd* (blanca Junín) tuvo rendimiento de 37,80 % del extracto del aislado proteico, lo cual esta supera a soya y tarwi y menor en rendimiento que el nuez marañón.

Según Badui, (2006), Las proteínas disueltas en un sistema acuoso sufren cambios en su estructura tridimensional cuando son trasladadas a un sistema con un solvente distinto. La dirección del cambio, hacia una mayor o una menor solubilización, depende del tipo de solvente al que se le traslade.

Muchas proteínas son altamente solubles a pH alcalino (8-9), al que normalmente se lleva a cabo la extracción de proteínas de fuentes vegetales, como sucede en la producción de aislados de soja o de otras leguminosas. La proteína se recupera del extracto por precipitación isoeléctrica en el rango de pH de 4,5 - 4,8. El comportamiento ante el pH cambia si la proteína se trata térmicamente, como consecuencia de la desnaturalización debido al cambio de hidrofobicidad superficial por el desplegamiento, lo que acarrea un incremento en las interacciones proteína-proteína (Badui, 2006). Para los aislados proteicos se recomienda realizar la extracción de proteínas en el rango de pH 8 a 9 (Fennema, 2000); considerando que a partir de pH 9 se favorece reacciones como las de racemización de los aminoácidos, la síntesis de enlaces isopectídicos y la formación de puentes covalentes intra o intermoleculares que vuelven a la proteína menos digestible (Linden y Lorient, 1996).

### 3.2.2. Análisis de varianza (ANOVA) de la extracción de proteína de quinua variedad blanca Junín.

El análisis de varianza evaluara el efecto de los factores en la extracción de proteína de quinua.

**Tabla 7:** Resultados (ANOVA) para la extracción de proteína de quinua variedad blanca Junín.

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P *
efectos principales					
A:pH alcalino	0,34398	5	0,068796	8,51	1,1102E-43
B:pH ácido	0,03180	5	0,006361	0,79	0,5615
Residuos	0,784106	97	0,008083		
Total	1,15989	107			

\*evaluados a  $\alpha = 0.05$

**Fuente:** Elaboración propia, Statgraphics Centurión XVI.II

En la tabla 7 muestran la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que para pH alcalino el valor-P es menor que 0.05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la extracción proteico con un 95,0% de nivel de confianza, es decir los niveles de pH alcalino en la solubilizacion influyen en la extracción de proteína, mientras tanto para pH ácido, el valor-P es mayor que 0,05 por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa todos los rangos de pH no influyen en el rendimiento de extracción proteína.

### 3.2.2.1. Comparación de rangos múltiple de los tratamientos para la proteína extraída de quinua blanca Junín

La comparación de pruebas de rangos múltiples es necesario el realizar esto se debe por lo que rechaza la hipótesis de igualdad de los niveles de pH para conocer cuáles de ellos son diferentes entre sí o al menos un tratamiento es diferente e influye en la extracción de la proteína de quinua, para ello se utilizó la tabla 8 y tabla 9.

**Tabla 8:** Prueba múltiple de rango por LSD para pH alcalino de quinua blanca Junín

pH alcalino	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10	18	0,1823	0,02394	X
10,5	18	0,2155	0,02394	X
9	18	0,2893	0,02394	X
9,5	18	0,3006	0,02394	X
8	18	0,3107	0,02394	X
8,5	18	0,3485	0,02394	X

\* Evaluados a  $\alpha = 0.05$

Fuente: STATGRAPHICS Centurión XVI.II

La tabla 8 detalla la diferencia estadística que existe entre los tratamientos en condiciones alcalino siendo pH 10,0; 10,5 diferente con pH 8,0 -9,5 los cuales influyen en la extracción de proteína. Con niveles de pH 8-9.5 la extracción de proteína será mayor en rendimiento de extracción.

**Tabla 9:** Pruebas de Múltiple Rangos de rendimiento a pH ácido quinua blanca Junín

pH ácido	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	18	0,257244	0,0239431	X
5,5	18	0,261961	0,0239431	X
5	18	0,264578	0,0239431	X
3,5	18	0,274867	0,0239431	X
4	18	0,293967	0,0239431	X
4.5	18	0,294467	0,0239431	X

Fuente: STATGRAPHICS Centurión XVI.II

La tabla 9, indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles de pH ácido de precipitación proteico en la extracción, todos los niveles de pH en condiciones ácido se obtendrán la misma cantidad de extracto proteico.

### 3.2.3. Evaluación del contenido proteico de mayor rendimiento de la proteína extraída de variedad blanca Junín

La extracción proteica con mayor rendimiento se realizó la cuantificación de proteínas para determinar el contenido de proteínas en las muestras del extracto por el método de Kjeldahl en el laboratorio de ciencias químicas de la Universidad Nacional san Antonio de Cusco (UNSAAC).

**Tabla 10:** Cuantificación de proteína de mayor rendimiento en la extracción de quinua blanca Junín

Tratamientos	pH solubilización	pH precipitación	Peso de la muestra (g)	aislado proteína en (g)	Rendimiento de aislado proteico (%)	Método Kjeldahl (%)	Rendimiento (%)
T3	8	4	5,8157	2,0978	32,37	54,25	59,67
T10	8,5	4,5	6,8068	2,7685	37,80	50,94	74,20
T15	9	4	3,4257	1,1112	32,19	65,30	49,30
T22	9,5	4,5	3,3558	1,1495	34,24	52,60	65,09
T30	10	5,5	3,3847	0,6478	19,11	59,54	32,10
T33	10,5	4	3,3506	0,8704	25,59	50,60	50,57

**Fuente:** laboratorio de química UNSAAC, 2014.

**% Proteína aislada** = ((g) proteína aislada total / peso muestra [g]) x 100

**Rendimiento** = (% proteína aislada / % proteína Kjeldahl) x 100

La tabla 10 muestra la cantidad del contenido proteico presente en la extracción del aislado proteico de (*Chenopodium quinoa Willd*) variedad blanca Junín cuyo valor es 74,20% de proteína en una muestra de aislado proteico.

- Para el T3 el aislado proteico obtenido es 2,0978 g el cual representa 32,37% de rendimiento en el extracto del aislado proteico, lo cual se cuantificó la cantidad de proteína presente, por método de Kjeldahl obteniendo 54,25 g de proteína/g de muestra, esto representa 59,67 % de proteína del total.
- Para el T10 el aislado obtenido es 2,7685 g representando 37,80 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo un resultado de 50,94 g proteína/g de muestra extracto lo cual representa 74,20 % de proteína en toda la muestra extraída.
- Para el T15 el aislado obtenido es 1,1112 g representando 32,19 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo 65,30 g de proteína/g de muestra extracto el mayor valor a comparación de los otros tratamientos.



- Para el T22 el aislado proteico es 1,1495 g representando 34,24 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo 52,60 g proteína/g de muestra, lo cual representa 65,09 % de proteína en toda la muestra extraída representando el mayor porcentaje de proteína entre toda la muestra debido a la cercanía de los porcentaje obtenido de aislado proteico con la cuantificación de proteína en la muestra.
- Para el T30 el aislado obtenido es 0,6478 g el cual representa 19,11 % de rendimiento del extraído con 59,54 g de proteína/g de muestra esto representa 32,10 % de proteína
- Para el T33 el aislado obtenido es 0,8704 g el cual representa 25,59 % de rendimiento del extraído conteniendo 50,60 g de proteína/ g de muestra de extracto, esto representa 50,57% de proteína en el extracto obtenido.

En la extracción de proteínas se busca obtener óptimos rendimientos económicos y no necesariamente máximos (Smith y Circle, 1978); desde el punto de vista de calidad nutricional de las proteínas.

La presencia de compuestos no deseables en el aislado proteico como son las fibras, azúcares solubles, polifenoles o sólidos disueltos, que pueden reaccionar con las proteínas, disminuyendo la calidad de las mismas, hace deseable su eliminación para el aprovechamiento adecuado de las proteínas.

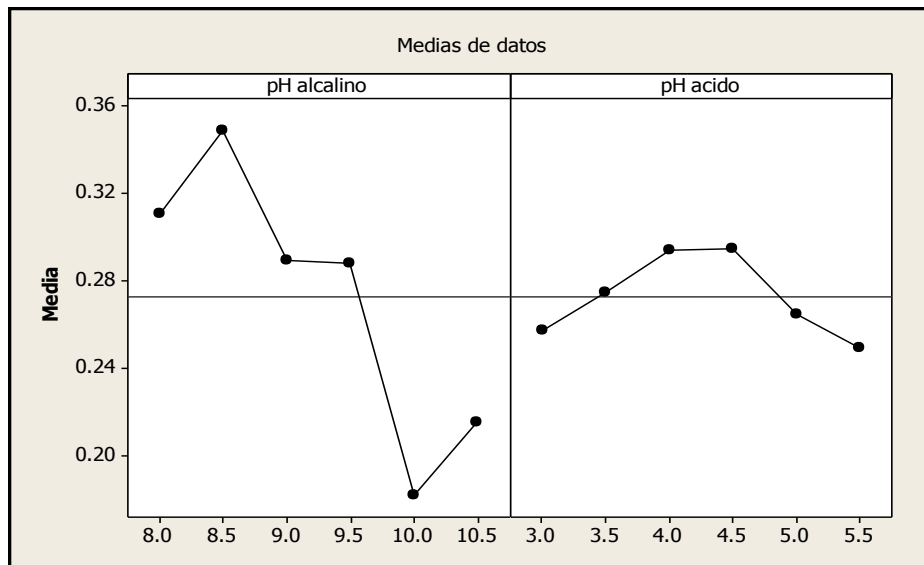
En la obtención del concentrado proteico se utilizó la harina de tarwi deslupinizada con el contenido proximal de 16,39 % de lípidos; 19,26 % de proteínas; 3,3% de cenizas; 6,93% de fibra y 47,48% de carbohidratos obteniéndose una solución en forma de pasta con un 74,29% de proteínas en base seca. (Villaverde, 2011).

Goncalvess *et al.*, (1997). En su investigación menciona el componente mayoritario de la Harina de colza desgrasada la muestra para el estudio tuvo proteína (31,4 %), la fibra (29,5 %). Así mismo, los sólidos disueltos (13 %) y los azúcares solubles (4,9 %) se encuentran en cantidades significativas, la concentración de lípidos es muy baja ya que han sido extraídos previamente. El aislado proteico final tiene una riqueza en proteínas del 86 %. Para el caso de nuez marañón en las diferentes etapas del proceso de obtención del aislado proteico. En condiciones a pH alcalino (9,0), y precipitada a pH 4,5 el rendimiento proteico respecto a la recuperación de las proteínas, se obtuvieron aislados proteicos con rango de 84,4 – 86.6 % en base húmeda y 90.0 – 91.3 % en base seca. (Ventura, 2003).

A partir de harina de quinua desgrasada en la VI región Chile la muestra para el estudio tiene  $12,7 \pm 0,4$  % de proteína, cuyo resultado es 77,2 % (Rivera, 2006), el contenido de proteínas también fue inferior que el obtenido en aislados de amaranto (otro pseudocereal), en cuyo caso se han reportado contenidos proteicos del 90 % (Martínez y Añón, 1996) y 84,4 %, en condiciones de extracción muy similares a las de quinua (Abugoch, 2006). Por otro lado en el aislado proteico de soya con composición proximal de la muestra, para la extracción de soya tiene proteína 54,54 % y los carbohidratos 34,71 % y un bajo contenido de grasa con el 0,49 %, cuyo contenido de proteína del aislado de soya fue del 85,45 % (Ávila, 2011).

El estudio de la composición proximal de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad blanca Junín) la composición química proximal fueron humedad 11,26 %, Proteína 15,81 %, Grasa 6,20 %, Ceniza 4,38 % y Carbohidratos 62,35 % de los cuales se tiene rendimiento de extracción de 37,80 % en condiciones a pH 8,5 de solubilización y pH 4,5 de precipitación proteica con contenido de 74,20 % de proteína analizada en la muestra proteica, este dato es relativamente menor que los anteriores pseudocereal

mencionados esto se debe a que la muestra inicial tuvo menor porcentaje de proteína mientras los citados cereales son su composición proximal inicial en algunos es el doble en contenido de proteína ( tarwi, colza, nuez marañón y soya).



**Figura 9:** Efectos principales para la proteína extraída de *Chenopodium quinoa Willd* (Blanca Junín)

**Fuente:** elaboración propia, Minitab 15

En la figura 9 indica la influencia de los tratamientos en función a la cantidad de proteína obtenida, en condiciones de solubilización a pH alcalino de 8,5 y pH ácido dentro de los parámetros de 4,0 – 4,5 de precipitación, se obtendrá con mayor rendimiento proteico, mientras se solubiliza a pH alcalino de 10,0 y precipitación a pH ácido de 3,0; 3,5; 5,0 y 5,5 la proteína será en menor.

#### **3.2.4. Resultados de proteína extraída de quinua variedad rosada Junín**

La extracción de la proteína de quinua fue en suspensión harina – agua 1:10 (p/v), en medio alcalino pH 8,0; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 y 10,5 y precipitación en medio ácido de pH 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 y 5,5 se obtienen la extracción del aislado proteico como se muestra en la tabla 11, debido a la eliminación de carbohidratos indeseables de la muestra en estudio. Los datos de las réplicas se detallan en el (Anexo 07).

**Tabla 11:** Resultados de proteína extraída de quinua variedad rosada Junín

Tratamiento	pH solubilización	pH precipitación	Peso de muestra (g)	Aislado proteína en (g)	Rendimiento de aislado proteico (%)
T1	8,0	3,0	3,280	0,561	16,85
T2	8,0	3,5	3,280	0,559	16,85
T3	8,0	4,0	3,280	0,608	18,43
T4	8,0	4,5	9,702	1,951	18,07
T5	8,0	5,0	3,617	0,577	16,34
T6	8,0	5,5	3,617	0,566	15,99
T7	8,5	3,0	4,073	0,753	18,48
T8	8,5	3,5	4,073	0,829	20,36
T9	8,5	4,0	4,073	0,845	20,74
T10	8,5	4,5	4,073	0,864	21,21
T11	8,5	5,0	5,431	0,979	18,02
T12	8,5	5,5	5,431	0,925	17,02
T13	9,0	3,0	3,723	1,545	41,40
T14	9,0	3,5	3,723	1,552	41,66
T15	9,0	4,0	3,723	1,569	42,18
T16	9,0	4,5	3,723	1,653	44,44
T17	9,0	5,0	4,104	1,743	42,75
T18	9,0	5,5	4,104	1,669	40,91
T19	9,5	3,0	3,659	1,254	34,91
T20	9,5	3,5	3,659	1,227	34,10
T21	9,5	4,0	3,659	1,226	34,08
T22	9,5	4,5	1,011	2,085	27,09
T23	9,5	5,0	3,659	1,271	35,38
T24	9,5	5,5	3,216	1,184	36,25
T25	10,0	3,0	3,405	0,623	18,12
T26	10,0	3,5	3,405	0,629	18,28
T27	10,0	4,0	3,405	0,698	20,22
T28	10,0	4,5	3,405	0,632	18,37
T29	10,0	5,0	3,762	1,615	15,84
T30	10,0	5,5	3,762	0,743	20,62
T31	10,5	3,0	3,367	0,836	24,84
T32	10,5	3,5	3,367	0,651	19,32
T33	10,5	4,0	3,367	0,658	19,55
T34	10,5	4,5	3,367	0,746	22,16
T35	10,5	5,0	4,489	0,849	18,93
T36	10,5	5,5	4,489	0,830	18,49

**Fuente:** elaboración propia

La tabla 11 muestra resultados de la extracción proteica como promedio de las réplicas experimentales de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad rosada Junín) se aprecia de manera general el mayor rendimiento de extracción es el T16 lo cual es a pH 9,0 de solubilización y pH 4,5 de precipitación a estas condiciones se obtuvo un rendimiento de 44,44% de extracto proteico y con menor rendimiento entre todo los tratamientos es T6 lo cual es pH 8,0 de solubilización y pH 5,5 de precipitación proteica, obteniendo 15,96% de extracto proteico.

El pH acondicionado para la solubilización proteica en la extracción del aislado proteico entre los niveles de pH alcalino se detalla como sigue:

- La solubilización proteica a pH 8,0 con pH de precipitación proteica el rendimiento es 18,43% de extracción del aislado proteico.
- La solubilización proteica a pH 8,5 con pH de precipitación el rendimiento es 21,21 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 9,0 con pH de precipitación el rendimiento es 44,44 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 9,5 con pH de precipitación el rendimiento es 36,25% de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 10,0 con pH de precipitación el rendimiento es 20,62 % de extracción del aislado proteico.
- La solubilización de proteína a pH 10,5 con pH de precipitación el rendimiento es 24,84 % de extracción del aislado proteico.

En los estudios de la extracción de aislado proteico de soya, obtiene el mejor rendimiento en las condiciones de medio alcalino para la solubilización a pH 9,5 y precipitación en el punto isoeléctrico 4,5 obteniendo el rendimiento de 24,55 %, con respecto a la harina desengrasada de soya. (Ávila, 2011).

A partir de harina de quinua desgrasada con  $12,7 \pm 0,4$  % de proteína, se obtuvo un aislado proteico solubilizando las proteínas a pH 9, lo cual obtuvo un aislado proteico con un contenido de proteínas del 77,2 % en la VI región Chile (Rivera, 2006).

Para la extracción del aislado proteico de nuez marañón en las diferentes etapas del proceso de obtención del aislado proteico. En condiciones a pH alcalino (9,0) y precipitación a pH 4,5. Se logró obtener 55,35 % de las proteínas iniciales en el aislado proteico obtenido por secado en estufa al vacío y el 56,43 % en el secado por atomizado. (Ventura, 2003).

De la harina de tarwi deslupinizada obtuvo rendimiento de 33,6 % en la extracción de concentrado proteico para uso en jamón. (Villaverde, 2011), sin embargo para el aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*) el rendimiento obtención fue de 35 % (Urrutia, 2010).

Finalmente la extracción del aislado proteico de *Chenopodium quinua Willd* (rosada Junín) tuvo rendimiento de 44,44 % del extracto del aislado proteico, lo cual está supera de algunos de los soya y tarwi a excepción de con nuez marañón.

Las proteínas disueltas en un sistema acuoso sufren cambios en su estructura tridimensional cuando son trasladadas a un sistema con un solvente distinto. La dirección del cambio, hacia una mayor o una menor solubilización, depende del tipo de solvente al que se le traslade (Badui, 2006), en el estudio se realiza con NaOH a 1N lo cual influye en la estructura proteica de la proteína de quinua.

Muchas proteínas son altamente solubles a pH alcalino (8-9), al que normalmente se lleva a cabo la extracción de proteínas de fuentes vegetales, como sucede en la producción de aislados de soya o de otras leguminosas. La proteína se recupera del extracto por precipitación isoeléctrica en el rango de pH de 4,5-4,8. Cuyo comportamiento ante el pH cambia si la proteína se trata térmicamente, como consecuencia de la desnaturalización debido al cambio de hidrofobicidad superficial por el desplegamiento, lo que acarrea un incremento en las interacciones proteína-proteína (Badui, 2006).

### 3.2.4.1. Análisis de varianza (ANOVA) de la extracción de proteína variedad rosada Junín

**Tabla 12:** Resultados de (ANOVA) para la extracción de proteína de quinua variedad Rosada Junín.

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P*
Efectos principales					
A:pH alcalino	0.9485	5	0,189708	59,59	1.0669E-40
B:pH ácido	0.0023	5	0,0004682	0,15	0.9805
Residuo	0,3088	97	0,0031835		
Total	1,2596	107			

\*evaluados a  $\alpha = 0.05$

**Fuente:** Statgraphics Centurión XVI.II

La tabla ANOVA indica la contribución de cada factor, el valor-P es menor que 0.05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre rendimiento con un 95.0% de nivel de confianza, es decir el pH alcalino de solubilización influye significativamente en la extracción del aislado proteico, mientras tanto el valor-P para pH ácido de precipitación proteico es mayor que 0.05, este factor no tiene efecto estadísticamente significativo sobre el extracto proteico con un 95.0% de nivel de



confianza, es decir los niveles de pH en la precipitación no influye significativamente en el rendimiento del aislado proteico.

### 3.2.4.2. Comparación de rangos múltiple de los tratamientos para el extracto proteico de quinua rosada Junín.

La comparación de pruebas de rangos múltiples es necesario realizar por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad de los niveles de pH para conocer cuáles de tratamientos son diferentes entre sí o al menos un tratamiento.

**Tabla 13: prueba múltiple de rango por LSD a pH alcalino de variedad rosada Junín**

pH alcalino	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
8	18	0,170883	0,0145169	X
10	18	0,185739	0,0145169	X
8,5	18	0,19305	0,0145169	X
10,5	18	0,205472	0,0145169	X
9,5	18	0,336339	0,0145169	X
9	18	0,422217	0,0145169	X

**Fuente:** Statgraphics Centurión XVI.II

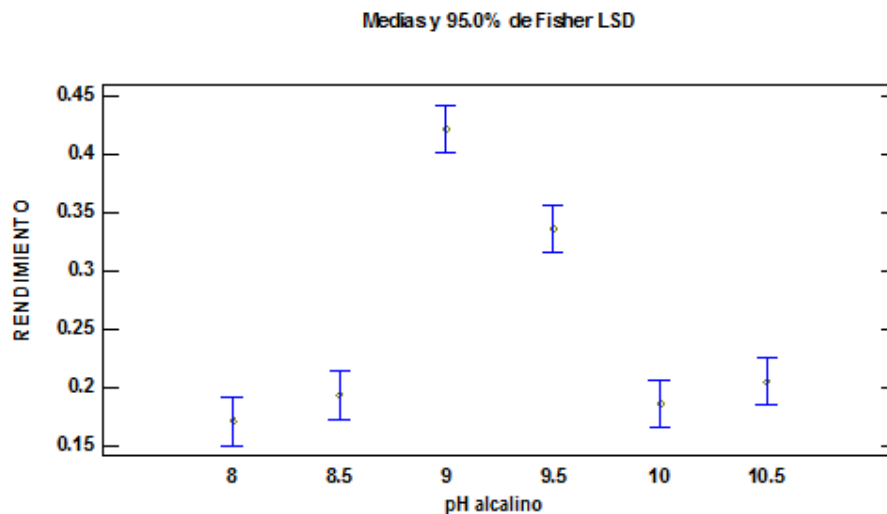
La tabla 13 indica cuáles de las medias son significativamente son diferentes de otras. En donde muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. A pH 8,0 y pH 9,0 son totalmente diferentes, mientras a pH 8,0; 10,5; 10,0; 8,5 son iguales como se detalla en la figura 10.

**Tabla 14: prueba múltiple de rango por LSD a pH ácido**

pH ácido	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
5	18	0,245428	0,0145169	X
5,5	18	0,248811	0,0145169	X
3,5	18	0,25095	0,0145169	X
4,5	18	0,252222	0,0145169	X
3	18	0,257633	0,0145169	X
4	18	0,258656	0,0145169	X

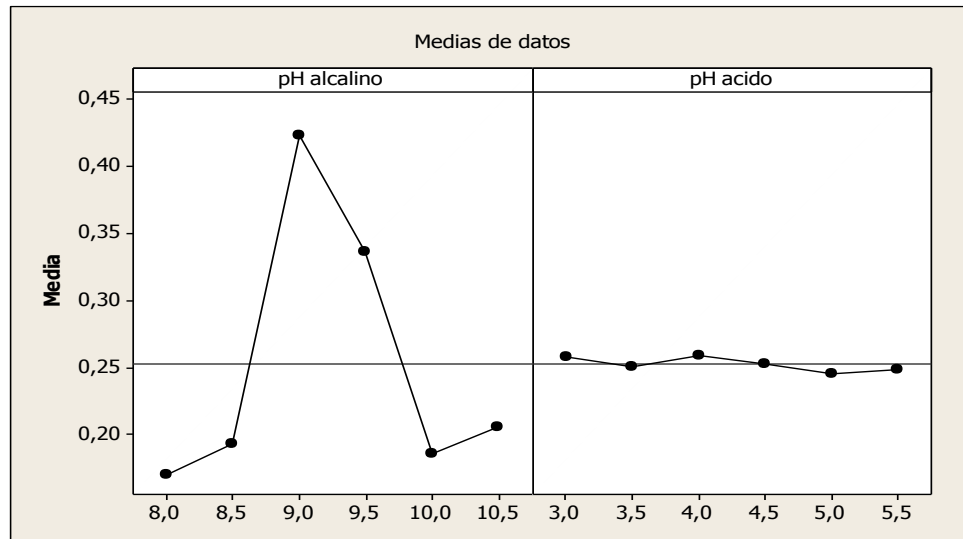
Fuente: Statgraphics Centurión XVI.II

La tabla 14, indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de pH ácido de precipitación proteica en la extracción de proteína, todos los niveles de pH en condiciones ácido se obtendrán la misma cantidad de extracto proteico, el método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia significativa de LSD, sin embargo ya no es necesario realizar la comparación de tratamientos para pH ácido, para el caos de PH alcalino es necesario realizar la prueba de LSD para ver cuál de los niveles influyen en la extracción de proteína.



**Figura 10 :** Comparación de la influencia en el rendimiento de la extracción proteica a pH alcalino

La figura 10 indica la diferencia significativa a pH 9,0 tiene mayor influencia en el rendimiento del aislado proteico, como se aprecia las líneas de los niveles de solubilización no interceptación con el pH 9,0 y pH 9,5 lo cual indican la diferencia de los datos sin embargo los pH 8; 8,5; 10 y 10,5 son iguales interceptan los valores.



**Figura 11:** Efectos principales en la extracción proteico de *Chenopoidum quinoa Willd* (Rosada Junín)

**Fuente:** elaboración propia, Minitab 15.

la figura 11 muestra la influencia de los tratamientos en función a la cantidad de proteína obtenida, lo cual indica si la muestra es solubilizada a pH alcalino de 9,0 y pH ácido dentro de los parámetros de 4,0 se obtendrá mayor concentración proteico en la muestra, mientras si se solubiliza a pH alcalino de 10,0 – 10,5 y pH ácido de 3,0; 3,5; 5,0 y 5,5 la cantidad proteína en la muestra será en menor porcentaje talvez como producto se puede obtener en mayor cantidad sin embargo la calidad proteica será mínimo, además estos rangos se consideran en la metodología de la extracción de aislado proteico a pH mayores a 9,0 se puede incrementar la extracción de componentes no proteicos, los

cuales precipitan con las proteínas, bajando así la calidad del aislado lo que se requiere es obtener una cantidad apreciable de proteína (Callisaya y Alvarado, 2009).

### 3.2.4.3. Evaluación del contenido proteico de mayor rendimiento de la proteína extraída de variedad Rosada Junín

La extracción proteica con mayor rendimiento se realizó la cuantificación de proteínas para determinar el contenido de proteínas en las muestras del extracto por el método de Kjeldahl en el laboratorio de ciencias químicas de la Universidad Nacional san Antonio de Cusco (UNSAAC).

**Tabla 15:** Resultados de la cuantificación de proteína de los mayores rendimientos en la extracción de proteína de quinua variedad rosada Junín

Tratamientos	pH solubilización	pH precipitación	peso de la muestra (g)	aislado proteína en (g)	rendimiento de aislado (%)	método Kjeldahl (%)	Rendimiento (%)
T3	8	4	3,2804	0,6084	18,43	31,45	58,59
T10	8,5	4,5	4,0733	0,8642	21,21	30,49	69,56
T16	9	4,5	3,7234	1,6534	44,44	60,99	72,86
T24	9,5	5,5	3,2158	1,1837	36,25	57,58	62,95
T30	10	5,5	3,7622	0,7432	20,62	41,22	50,04
T31	10,5	3	3,3673	0,8355	24,84	52,20	47,58

**Fuente:** Elaboración propia, laboratorio de química UNSAAC.  
 % Proteína aislada = ((g) proteína aislada total / peso muestra [g]) x 100  
 Rendimiento = (% proteína aislada / % proteína Kjeldahl) x 100

La tabla 15 muestra la cantidad de proteína presente en la extracción del aislado proteico de *Chenopodium quinoa Willd* variedad rosada Junín con contenido de 72,86 % de una muestra inicial de contenido 16,02 % de proteína.

- Para el T3 el aislado obtenido es 0,6084 g el cual representa 18,43% de rendimiento del extracto proteico, lo cual se cuantifica la proteína presente en dicho extracto por método de Kjeldahl

obteniendo 31,45 g de proteína/g de muestra de extracto proteico esto representa 58,59 % de proteína presentes en la muestra.

- Para el T10 el aislado obtenido 0,8642 g representando 21,21 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo un resultado de 30,49 g lo cual representa 69,56 % de proteína en toda la muestra extraída.
- Para el T16 el aislado obtenido 1,6534 g representando 44,44 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo un resultado de 60,99 g el cual representa 72,86 % representando el mayor porcentaje de proteína entre toda la muestra debido a la cercanía de los porcentaje obtenido de aislado proteico con la cuantificación de proteína en la muestra.
- Para el T24 el aislado obtenido 1,1837 g representando 36,25 %, la muestra extraída se cuantifica la proteína obteniendo un resultado de 57,58 g lo cual representa 62,95 % de proteína en toda la muestra extraída.
- Para el T30 el aislado obtenido es 0,7482 g el cual representa 20,62 % de rendimiento extracto lo cual se cuantifica la cantidad de proteína presente obteniendo 41,22 g esto representa 50,04 % de proteína.
- Para el T31 el aislado obtenido es 0.8355 g el cual representa 24,84 % de rendimiento extracto lo cual se cuantifica la cantidad de proteína presente en dicho extracto por método de Kjeldahl obteniendo 52,20 g esto representa 47,58 % de proteína en el extracto obtenido.

Los estudios demuestran para el aislado obtenido de tarwi (*lupinus mutabilis*) con análisis de la muestra inicia contenido en proteínas y lípidos 43,31 y 16,83 %, mientras que en la harina deslupinizada y semidesgrasada los resultados fueron 49,87 y 3,23 % respectivamente, obteniendo el

aislado proteico en base a sus parámetros óptimos con el siguiente análisis proximal de humedad, grasa, proteína, ceniza, fibra y carbohidratos de 4,87; 0,61; 92,83; 1,48; 0,39 y 1,12 % respectivamente, siendo evidente el alto contenido de proteínas (Urrutia, 2010).

Mientras para la obtención del concentrado proteico de tarwi, utilizó la harina de tarwi deslupinizada con el contenido proximal de 16,39 % de lípidos, 19,26 % de proteínas, 3,3 % de cenizas, 6,93 % de fibra y 47,48 % de carbohidratos obteniéndose una solución en forma de pasta con un 74,29 % de proteínas en base seca con un rendimiento del proceso de extracción del 33,6 %.(Villaverde, 2011).

En su investigación Goncalvess *et al.*, (1997) indica el componente mayoritario de la Harina de colza desgrasada la muestra para el estudio tuvo proteína (31,4 %), la fibra (29,5 %). Así mismo, los sólidos disueltos (13 %) y los azúcares solubles (4,9 %) se encuentran en cantidades significativas, la concentración de lípidos es muy baja ya que han sido extraídos previamente. El aislado proteico final tiene una riqueza en proteínas del 86 %. Para el caso de nuez marañón en las diferentes etapas del proceso de obtención del aislado proteico. En condiciones a pH alcalino (9,0), y precipitada a pH 4,5 el rendimiento proteico respecto a la recuperación de las proteínas, se obtuvieron aislados proteicos con rango de 84,4 – 86,6 % en base húmeda y 90,0 – 91,3 % en base seca. (Ventura, 2003).

A partir de harina de quinua desgrasada en la VI región Chile la muestra para el estudio tiene  $12,7 \pm 0,4$  % de proteína, cuyo resultado es 77,2 % (Rivera, 2006), el contenido de proteínas también fue inferior que el obtenido en aislados de amaranto (otro pseudocereal), en cuyo caso se han reportado contenidos proteicos del 90 % (Martínez y Añón, 1996) y 84,4 %, en condiciones de extracción muy similares a las de quinua (Abugoch, 2006). Por otro lado en el aislado proteico de soya con composición proximal de la muestra, para la extracción de soya tiene proteína 54,54 % y los

carbohidratos 34,71 % y un bajo contenido de grasa con el 0.49 %, cuyo contenido de proteína del aislado de soya fue del 85,45 % (Ávila, 2011).

El contenido proteico del extracto obtenido de quinua variedad rosada Junín es 72.86% cuyo análisis proximal inicial de la muestra fue de Humedad 12,72 %, Proteína 16,62 %, Grasa 6,32 %, Ceniza 4,43 % y Carbohidratos 59,91 % , en comparación este dato es relativamente menor que los anteriores pseudocereales mencionados esto se debe a que la muestra inicial tuvo menor porcentaje de proteína, mientras los citados cereales su composición proximal inicial en algunos es el doble en contenido de proteína ( tarwi, colza, nuez marañón y soya) frente a quinua variedad rosada Junín.

En la extracción de proteínas se busca obtener óptimos rendimientos económicos y no necesariamente máximos (Smith y Circle, 1978); desde el punto de vista de calidad nutricional de las proteínas.

La presencia de compuestos no deseables en el aislado proteico como son las fibras, azúcares solubles, polifenoles o sólidos disueltos, que pueden reaccionar con las proteínas, disminuyendo la calidad de las mismas, hace deseable su eliminación para el aprovechamiento adecuado de las proteínas.

### **3.3. RESULTADOS DE ANÁLISIS DEL PERFIL DE AMINOÁCIDOS DE LA PROTEÍNA EXTRAIDA DE QUINUA VARIEDAD BLANCA JUNÍN Y VARIEDAD ROSADA JUNÍN POR HPLC.**

Los resultados que muestran a continuación son analizados por la derivatización usando orto-ftaldeído (OPA) para los aminoácidos primarios y fluorometilcloroformiato de metilo (FMOC) para los aminoácidos secundarios. La combinación de este protocolo permite un rápido pre-derivatización de

aminoácidos. La mezcla de reacción es tamponada a pH 10,2 que permite el análisis directo en medio acuoso.

**Tabla 16:** Cuantificación de aminoácidos de la quinua variedad blanca Junín y rosada Junín.

AAE	A (µg)		B (µg)		C (µg)		D (µg)	
Ac. aspártico	0,0517	+/- 0,0027	0,1402	+/- 0,0115	0,0564	+/- 0,0041	0,2449	+/- 0,0533
Ac. glutámico	0,0755	+/- 0,0028	0,2225	+/- 0,0067	0,1149	+/- 0,0042	0,4776	+/- 0,1592
Serina	0,0451	+/- 0,0046	0,1171	+/- 0,0016	0,0530	+/- 0,0041	0,1933	+/- 0,0402
Histidina	0,0911	+/- 0,0022	0,2048	+/- 0,0301	0,1432	+/- 0,0084	0,3502	+/- 0,0790
Glicina	0,1263	+/- 0,0023	0,3142	+/- 0,0055	0,1731	+/- 0,0073	0,5560	+/- 0,1308
Treonina	0,0187	+/- 0,0008	0,0510	+/- 0,0007	0,0213	+/- 0,0041	0,0888	+/- 0,0216
Arginina	0,0269	+/- 0,0069	0,0715	+/- 0,0049	0,0204	+/- 0,0075	0,4329	+/- 0,1794
Alanina	0,0455	+/- 0,0029	0,1293	+/- 0,0027	0,0512	+/- 0,0095	0,1443	+/- 0,0459
Valina	0,0152	+/- 0,0029	0,0583	+/- 0,0013	0,0236	+/- 0,0043	0,0889	+/- 0,0245
Metionina	0,0216	+/- 0,0047	0,0851	+/- 0,0003	0,0258	+/- 0,0098	0,1199	+/- 0,0319
Fenilalanina	0,0349	+/- 0,0033	0,1045	+/- 0,0067	0,0882	+/- 0,0386	0,6098	+/- 0,1009
Isoleucina	0,0157	+/- 0,0022	0,0473	+/- 0,0019	0,0196	+/- 0,0012	0,0870	+/- 0,0203
Leucina	0,0585	+/- 0,0031	0,2073	+/- 0,0029	0,0850	+/- 0,0087	0,4053	+/- 0,1115
Lisina	0,1261	+/- 0,0035	0,3162	+/- 0,0059	0,1621	+/- 0,0123	0,5027	+/- 0,1040
Prolina	0,0045	+/- 0,0007	0,0140	+/- 0,0070	0,0048	+/- 0,0003	0,0121	+/- 0,0018

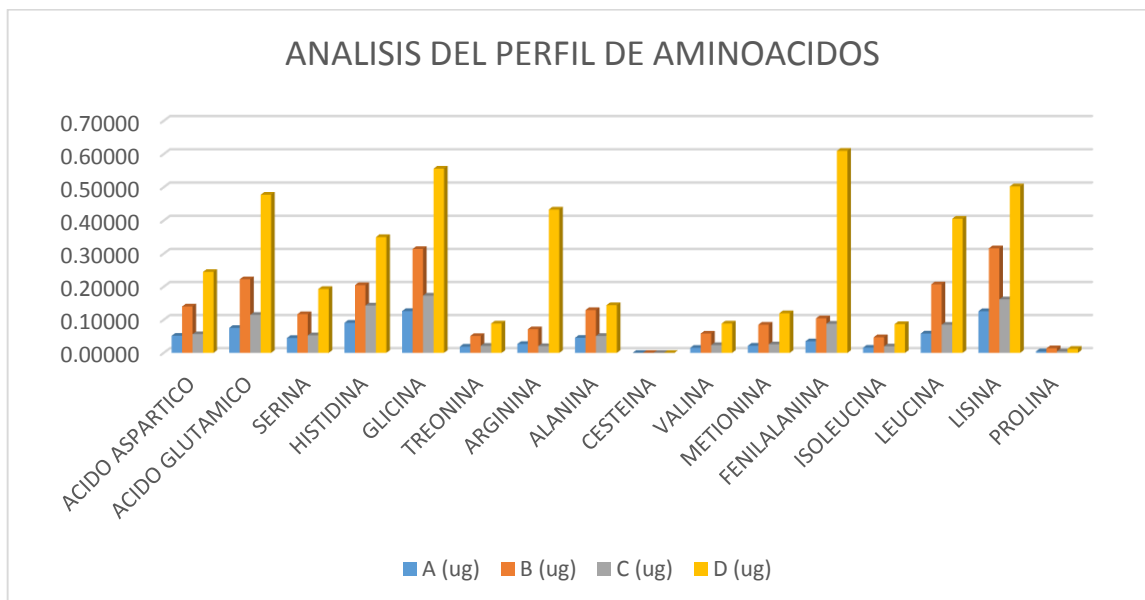
Fuente: Laboratorio de cromatografía de la UNSAAC – Elaboración propia

La codificación es lo siguiente para

- *Chenopodium quinoa Willd* (Blanca Junín) sin tratamiento (A).
- Extracto proteico de *Chenopodium quinoa Willd* Blanca Junín (B).
- *Chenopodium quinoa Willd* (Rosada Junín) sin tratamiento (C).
- Extracto proteico de *Chenopodium quinoa Willd* rosada Junín (D).

Los resultados por triplicado se muestran en el (anexo 06). En consecuencia la figura 12 muestra la comparación de los aminoácidos cuantificados por el equipo HPLC,





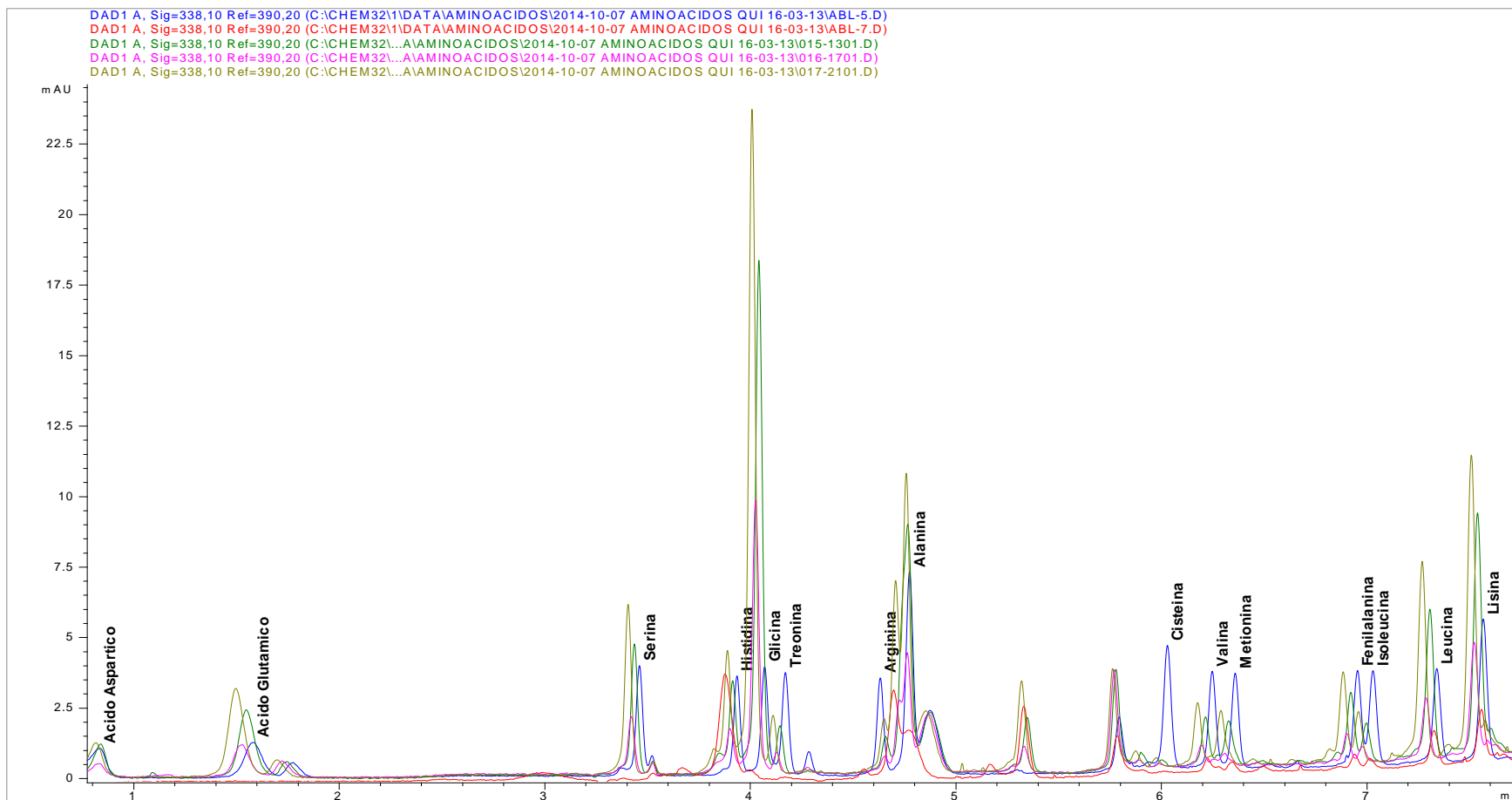
**Figura 12:** Comparación del perfil de aminoácidos de las muestras de *Chenopodium quinoa Willd* con tratamiento y sin tratamiento

La muestra D: presenta mayor proporción del perfil aminoacídico con mayor cantidad en fenilalanina, glicina, lisina ácido glutámico, arginina, leucina, histidina y los otros aminoácidos en menor proporción.

La muestra B: es la segunda muestra en proporcionar los aminoácidos de orden comparativo

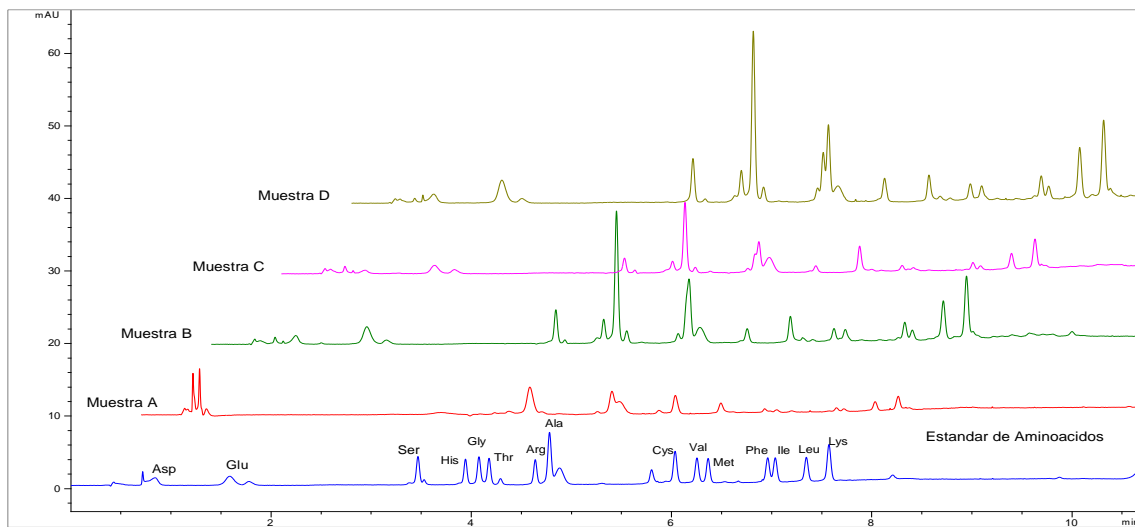
La muestra C: es la tercera muestra en proporcionar el aminoácido presentes en las dos variedades de estudio.

Los aminoácidos presentes en cada muestra en estudio se analizan en comparación de los picos que identifican para cada tipo de aminoácido en función a la muestra patrón estándar tal como indica la figura 13.



**Figura 13:** comparación de picos del perfil de aminoácido estándar con las cuatro muestras de *Chenopodium quinoa Willd*

\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D



**Figura 14:** Identificación y comparación de las muestras con el aminoácido estándar

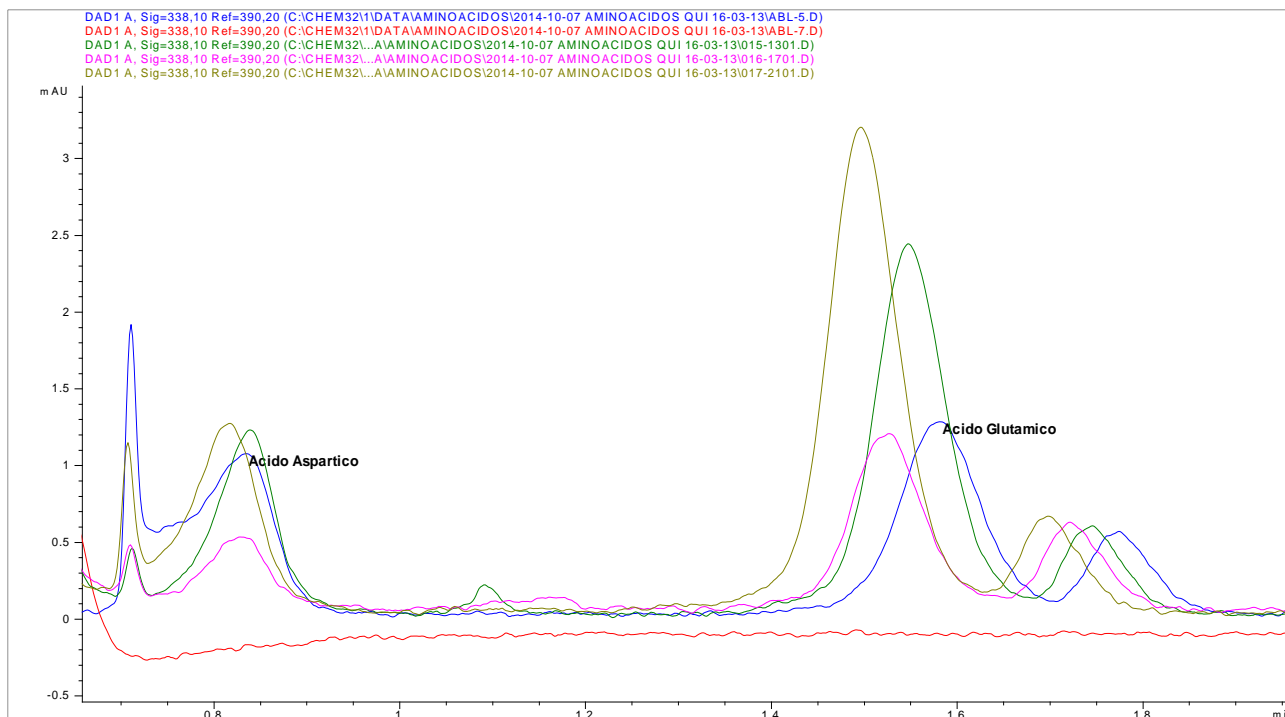
\*A: *Chenopodium quinoa Willd* (blanca Junín) sin tratamiento

B: Aislado proteico *Chenopodium quinoa Willd* (blanca Junín)

C: *Chenopodium quinoa Willd* (rosada Junín) sin tratamiento

D: Aislado proteico de *Chenopodium quinoa Willd* (rosada Junín)

Fuente: Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC



**Figura 15:** pico de comparación de ácido aspártico y ácido glutámico VS estándar

\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

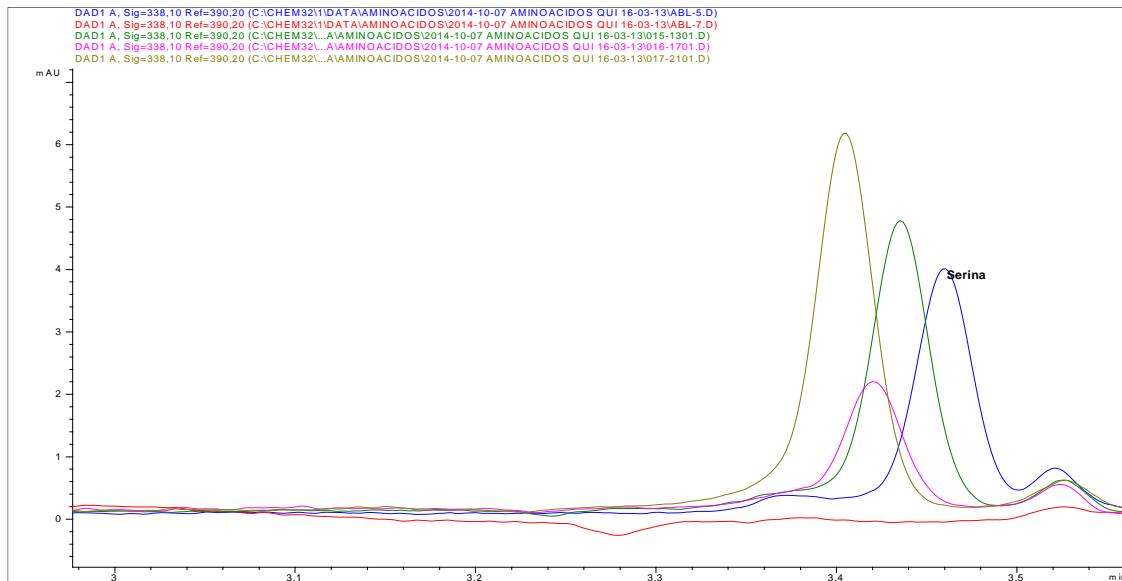
**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

#### A. ÁCIDO ASPARTICO

En la Figura 15, se muestra una altura de pico, los cuales se hicieron una comparación con los resultados de las muestras en ello indica los picos, extracto proteico de blanca Junín y extracto proteico de rosada Junín son similares solo hay una decadencia y llega a 0.5 mAU mili unidades de absorbancia para la muestra sin tratamiento de variedad rosada Junín y sin tratamiento de blanca Junín.

B. ÁCIDO GLUTAMICO: Presenta mayor cantidad la muestra D con 0.47756  $\mu\text{g}$  llegando a 3 mAU la muestra B con 0.22254  $\mu\text{g}$  la muestra C con 0.11486  $\mu\text{g}$  y la muestra A 0.07546  $\mu\text{g}$  muy bajo cuyo pico es por debajo de 0 mAU en comparación con el estándar.

Los Aminoácidos aspártico y glutámico tienen grupos R cargados negativamente (ácidos) que poseen un segundo grupo carboxilo (COOH), ionizado negativamente a pH 6,0 a 7,0 que les confieren sus propiedades ácidas lo cual permite que sea más soluble en agua

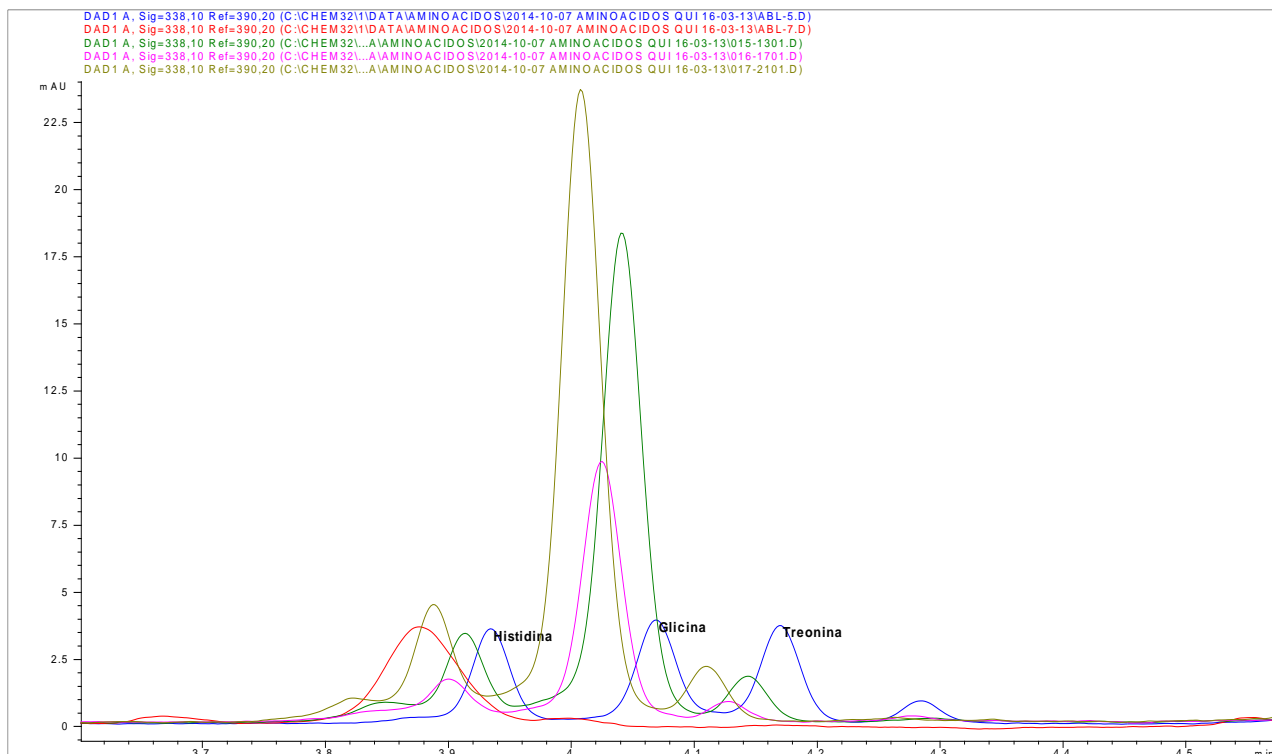


**Figura 16:** Pico de comparación del aminoácido serina vs estándar

\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

- C. SERINA: el pico indica para la muestra D 0.19326ug con 6.1 mAU lo que indica hay mayor proporción en comparación de las muestras A, B y C. La muestra B tiene 0,1171  $\mu\text{g}$  siendo el segundo lugar de pico, la muestra C tiene 0,05298  $\mu\text{g}$ , mientras la muestra A con 0,0450938  $\mu\text{g}$  lo cual es mínima cantidad esto se debe a que la quinua sin tratamiento de variedad blanca proporciona al alimento mínima cantidad, este aminoácido tiene grupo funcional neutro y polar, que puede establecer enlaces de hidrógeno con el agua. La polaridad de la serina se debe al grupo hidroxilo (-OH).



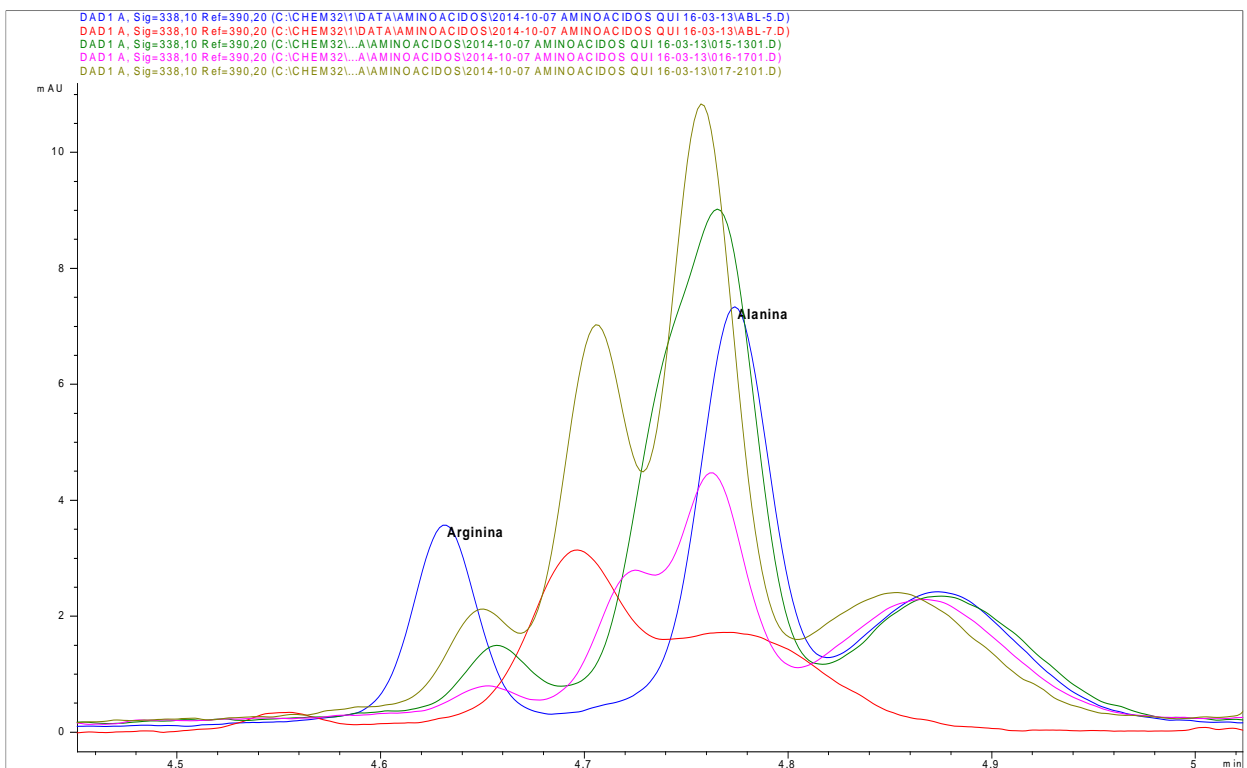
**Figura 17 :** Pico de comparación del aminoácido histidina, glicina y treonina vs estándar

\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

- D. HISTIDINA: los picos de las muestras en identificar la histidina en comparación al pico del estándar son similares excepto a la muestra C (quinua rosada Junín sin tratamiento) presenta mínimo contenido de este aminoácido además tiene grupo R cargados positivamente (básicos), donde los aminoácidos básicos son aquellos que su grupo R presenta carga positiva a pH 7,0. Todos tienen 6 átomos de carbono, por lo que aporta un alimento esencial en la alimentación en la nutrición de las células neurológicas.
- E. GLICINA : la identificación de aminoácidos para la muestra D (extracto proteico de quinua variedad rosada Junín) , el pico es mayor debido a las condiciones de extracción frente a las otras muestras y del estándar.

F. TREONINA: las muestras son relativamente bajas de este aminoácido incluso es por los picos identifican menor en comparación con el estándar, ello indica la proteína extraída a partir de quinua es bajo en Treonina, a la vez la muestra A no se ha identificado por su contenido mínimo del total y a la vez tiene grupo funcional neutro y polar, que puede establecer enlaces de hidrógeno con el agua, la polaridad de treonina se debe al grupo hidroxilo (-OH).



**Figura 18:** Pico de comparación del aminoácido arginina y alanina vs estándar

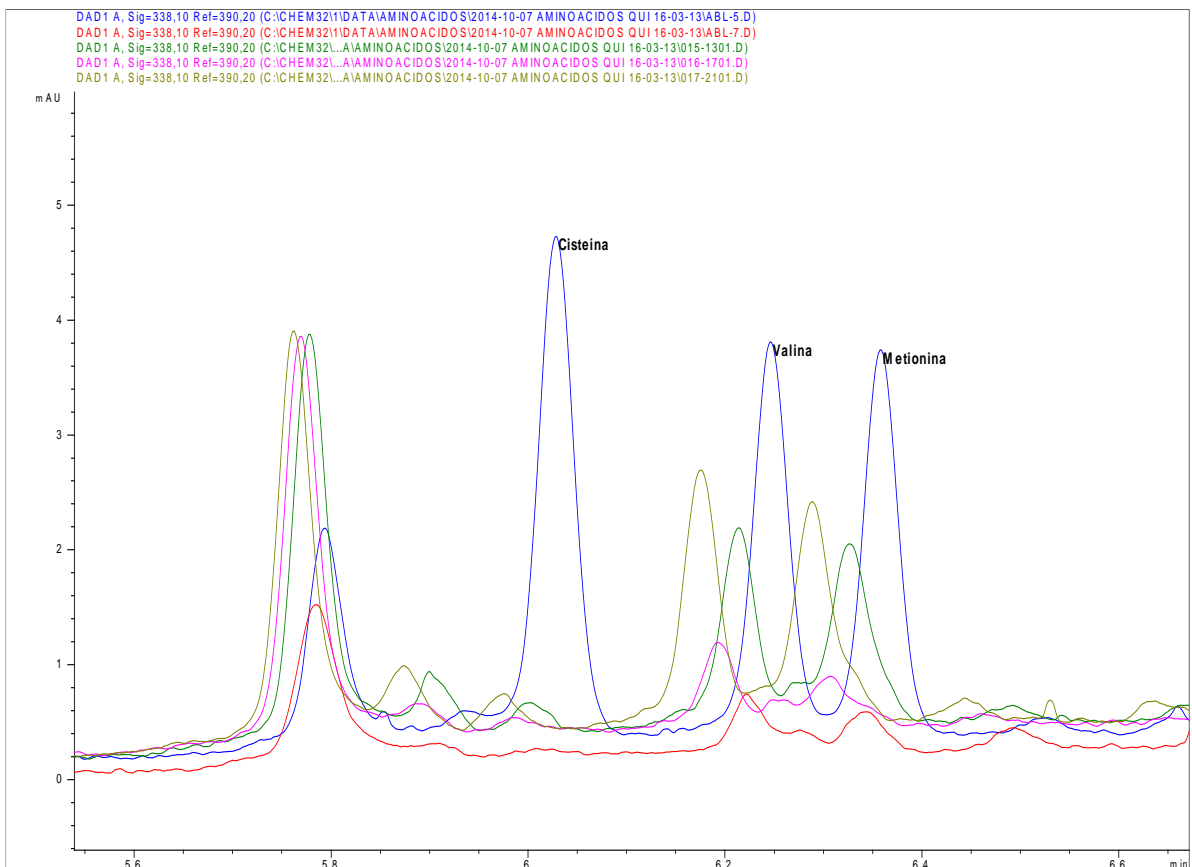
\* Azul = STD, Rojo = A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

G. ARGININA: la muestra D cuantifica pico más alto frente a las muestras de extracto proteico de variedad blanca Junín, al extraer proteína aumenta los aminoácidos en las 2 muestras con tratamiento, este Aminoácidos tiene grupo R cargados positivamente (básicos), donde los

aminoácidos básicos son aquellos que su grupo R presenta carga positiva a pH 7,0. Todos tienen 6 átomos de carbono, por lo que aporta un alimento mayor balanceado esencial en la alimentación.

H. ALANINA: las muestras D y la muestra B indican picos de 8 - 10 mAU , las muestra A y la muestra C el pico es por debajo del estándar debido a la poco contenido de este aminoácido en las muestras indicadas, este aminoácido contiene grupos R no polares o hidrofóbicos lo cual pertenece a los aminoácidos con cadena lateral alifática por lo que es menos soluble en el agua.



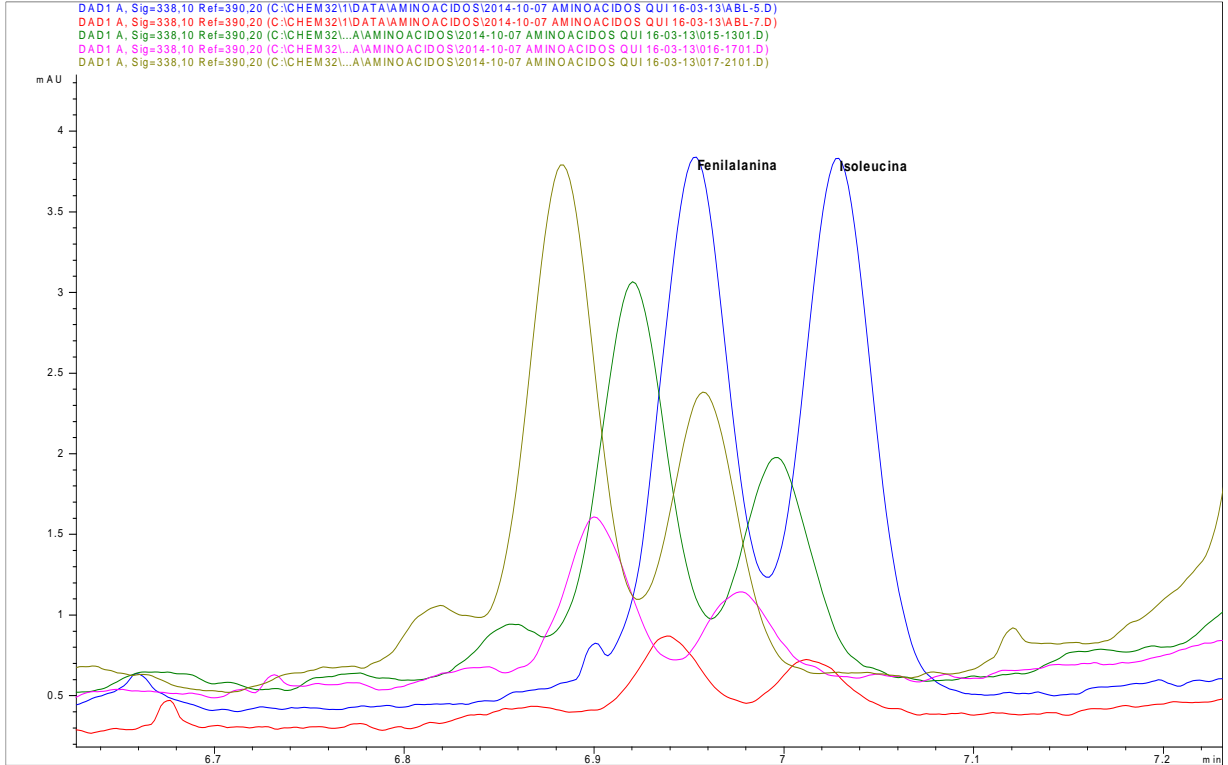
**Figura 19:** Pico de comparación del aminoácido cisteína, valina y metionina vs estándar

\* Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC



- I. CISTEINA: no hay presencia de este aminoácido en las muestras de quinua de las dos variedades.
- J. VALINA: las muestras presentan mínima cantidad de este aminoácidos, en lo que concierne para D el pico es superior frente a la 3 muestras pero menor que el estándar el menor pico es la muestra A quinua variedad blanca Junín sin tratamiento y muestra C quinua variedad rosada Junín sin tratamiento, Este aminoácido tiene R grupo no polar hidrofóbico es decir tiene una cadena lateral alifática y no son solubles en agua.
- K. METIONINA: los picos de comparación indican relativamente iguales con el aminoácido valina que también el pico de las muestras es menor que el estándar, este aminoácido tiene R grupo no polar hidrofóbico y contiene azufre. Son menos solubles en el agua que los aminoácidos polares.



**Figura 20:** Pico de comparación del aminoácido fenilalanina e Isoleucina vs estándar

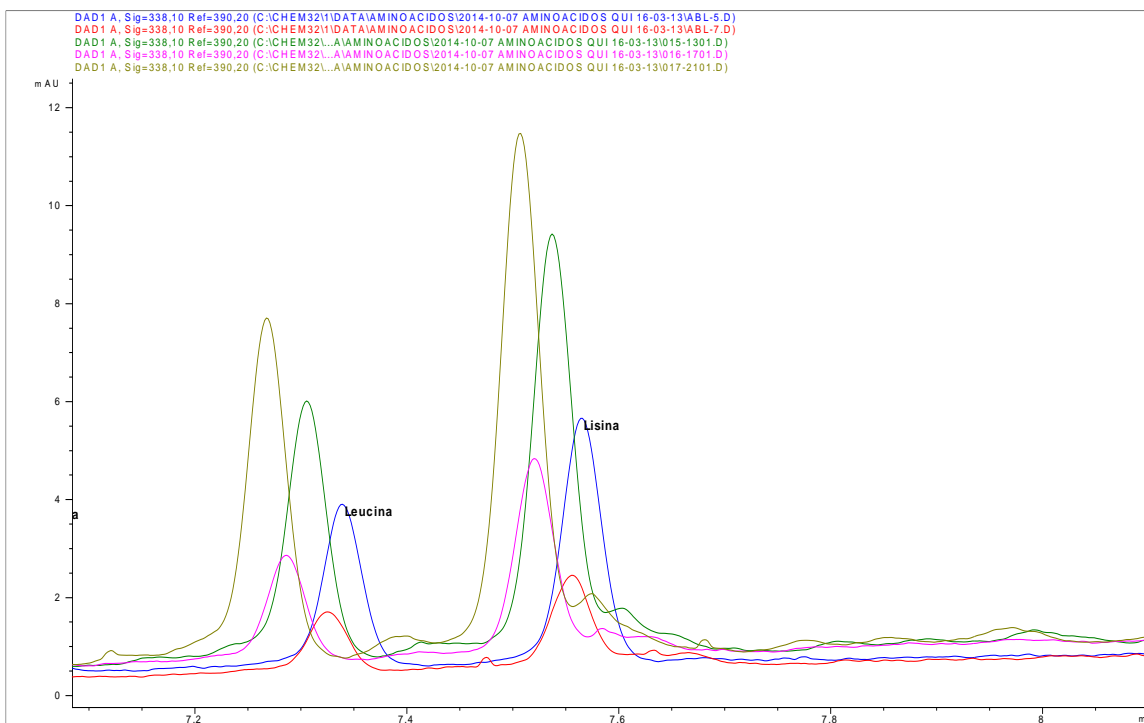
\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

Fuente: Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

L. FENILALANINA: la muestra A indica bajo el pico de cuantificación de este aminoácido al igual que la muestra C, mientras las muestras B y la muestra D la diferencia de pico es mínimo y mejor que el estándar tienen mayor proporción de este aminoácido, también es un aminoácido con grupos R no polares o hidrofóbicos con anillos aromáticos. Son menos solubles en el agua que los aminoácidos polares.

M. ISOLEUCINA: las muestra A y la muestra C tienen la identificación de pico muy bajo a diferencia del aminoácido fenilalanina, mientras las muestras B y la muestra D, el pico de identificación es

similar este aminoácido en las muestras son relativamente bajos. Este aminoácido tiene R grupo no polar hidrofóbico es decir tiene una cadena lateral alifática y son muy poco soluble en agua.



**Figura 21:** Pico de comparación del aminoácido leucina y lisina vs estándar

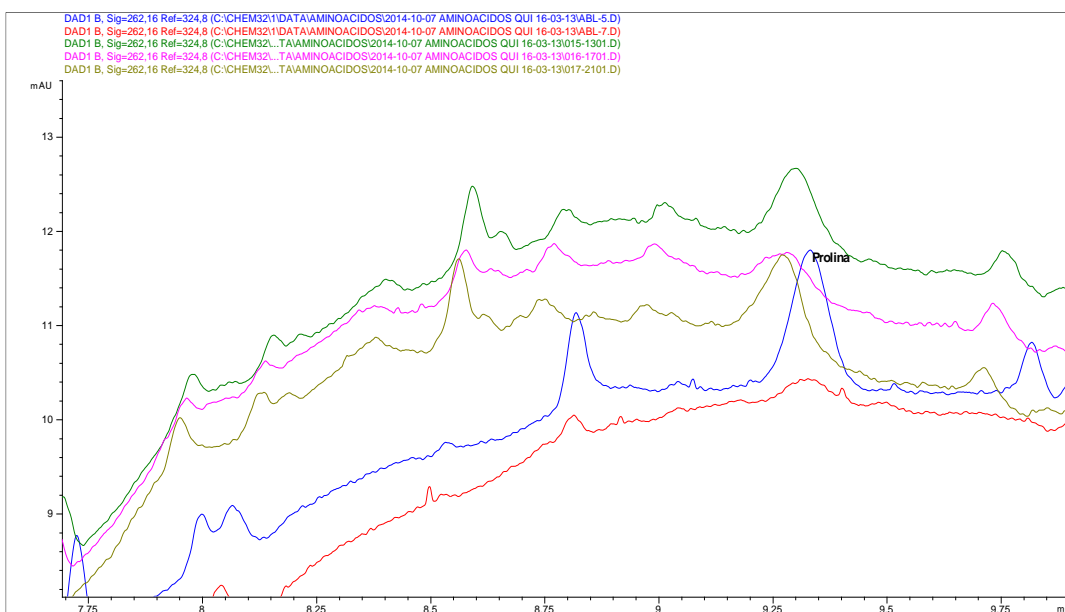
\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

- N. LEUCINA: es el cuarto aminoácido abundante en la muestra D cuyo pico es superior a la del estándar y a la vez cuarto aminoácido abundante en la muestra B mientras los picos de la muestra A y muestra C son relativamente iguales e inferior al estándar, Este aminoácido tiene R grupo no polar hidrofóbico es decir tiene una cadena alifática por lo cual es menos soluble en agua.
- O. LISINA: el aminoácido limitante en los cereales para la muestra B es el AAE más abundante cuyo pico es superior al estándar, para la muestra D es el segundo AAE abundante seguido de fenilalanina cuyo pico de identificación es superior de todas las muestras comparativas, para la

muestra A es el primer AAE más abundante cuyo pico de identificación es inferior a todas las muestras comparativas y para la muestra C es el más abundante al igual que el AAE glicina.

La harina de quinua es altamente superior en lisina (aminoácido principal en legumbres) (Chauhan, 1992), importante en el desarrollo de las células vegetales y en el crecimiento, se asocia al desarrollo de la inteligencia, memoria y aprendizaje, Esta sirve de base para considerar la suplementación de las harinas de trigo con quinua (Tapia *et al.*, 1979).



**Figura 22:** Pico de comparación del aminoácido prolina vs estándar

\*Azul = STD, Rojo= A, Verde = B, Lila = C, Marrón = D

**Fuente:** Laboratorio de Cromatografía de la UNSAAC, reporte equipo HPLC

P. PROLINA: los picos en la identificación de este aminoácido frente al estándar es relativamente menor, solo se asemejan los extractos proteico de las dos variedades, la muestra de quinua sin tratamiento blanca Junín contiene mucho menor a las muestras con tratamiento en la extracción proteico, Este aminoácido tiene R grupo no polar hidrofóbico es decir tiene una cadena alifática y es menos soluble en el agua que los aminoácidos polares

La cuantificación del perfil de aminoácido de la muestra blanco (quinua variedad blanca Junín) en comparación la muestra final (extracto proteico de quinua variedad blanca Junín) permite evaluar el incremento del contenido de aminoácido que se tiene en la muestra. Ac. Aspártico (171,18 %), ac. Glutámico(194,70%), serina (159,65 %), histidina (124,81 %), glicina (148,77%), treonina (172,73 %), arginina (165,80 %), alanina (184,77 %), valina (283,55 %), metionina (293,98 %), fenilalanina(199,43 %), isoleucina (201,27 %), leucina (254,36 %), lisina (150,75 %), prolina (211,11 %), esto permite a que el extracto proteico tenga mayor aporte nutricional en el uso como ingrediente en los alimentos elaborados.

En caso de la quinua variedad rosada Junín tiene incremento del contenido de aminoácido en extracto proteico como se detalla. Ac. Aspártico (334,22 %), Ac. Glutámico(315,67%), serina (264,72%), histidina (144,55 %), glicina (221,20%), treonina (316,90 %), arginina (438,43 %),alanina(181,84 %), valina (276,69%), metionina (364,73 %), fenilalanina(591,38 %), isoleucina (343,88 %), leucina (376,82 %), lisina (2210,12 %), prolina (152,08 %), el conocimiento de valores encontrados en comparación con la muestra inicial y extracto proteico garantiza la calidad de nutriente que pueda proporcionar en un alimento al ser adicionado.

Sin embargo, Castel (2010), utilizando la metodología tradicional de aislamiento obtenido de amaranto por precipitación isoeléctrica sin extracción ácida inicial, se obtiene un aumento de fenilalanina (43 %), metionina (40 %), treonina (34%) e histidina (32 %); y una disminución del 17 % de glicina y 10 % de cisteína. En el método alternativo con precipitación isoeléctrica con extracción ácida inicial, el aumento de las concentraciones de aminoácidos fue menor y puede destacarse el contenido de isoleucina y fenilalanina (aumento del 31 y 38 % respectivamente); por otro lado, hay una disminución de serina y

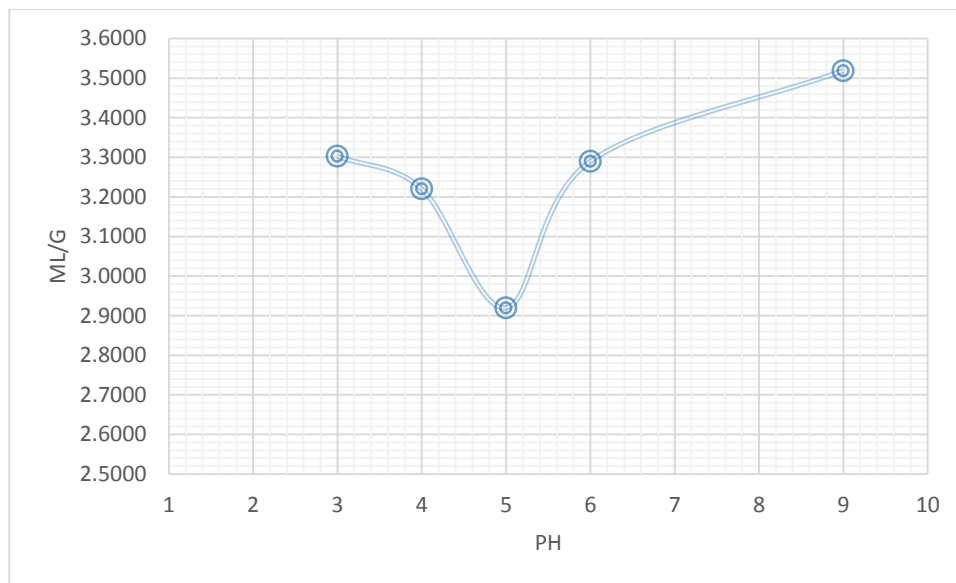
una pérdida considerablemente mayor de glicina que en el método tradicional en este concentrado 31 %. El suero obtenido de la precipitación isoelectrica, presenta una disminución del contenido de la mayoría de los aminoácidos y un aumento destacado de metionina de 45 % y cisteína 56 %, lo que podría indicar que se ha concentrado en el suero la fracción de albúminas (hidrosolubles).

### 3.4. RESULTADOS DE PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE LA PROTEINA EXTRAÍDA PARA SU USO EN LOS ALIMENTOS

Los resultados de las propiedades tecnológicas es de mucha importancia conocer los valores en la que se encuentran por lo que permiten un adecuado uso en la formulación de los alimentos.

#### A. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Los resultados de CRA muestran en la figura 23 y figura 24 acondicionados en función a los A pH 3, pH 4, pH 5, pH 6 y pH 9 cuyos resultados servirán el uso en la industria alimentaria.

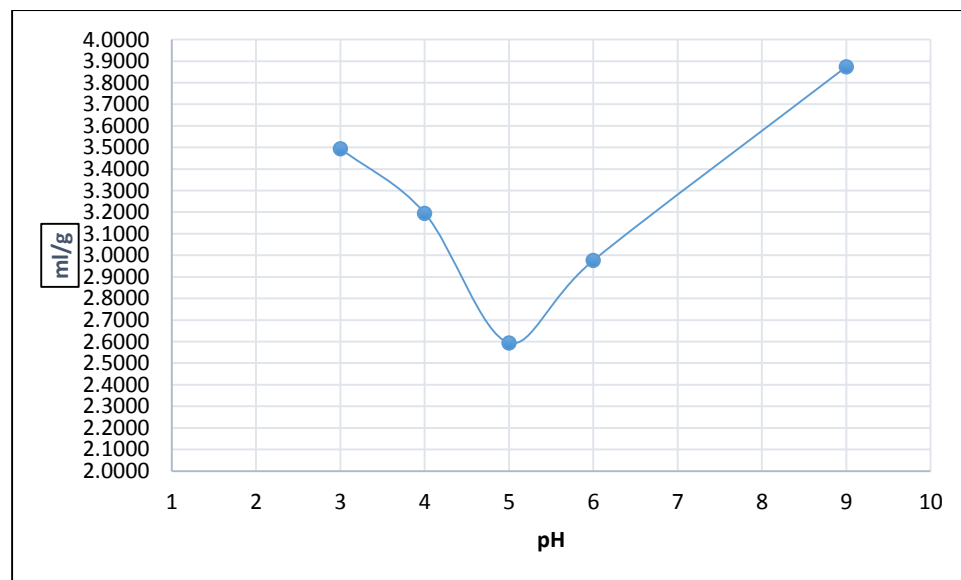


**Figura 23:** Capacidad de retención de agua del extracto proteico de quinua blanca Junín

El comportamiento del extracto proteico en CRA fue diferente según el pH de la solución.

A pH 3 la CRA es  $3,3 \text{ ml/g} \pm 0,3$ , pH 4 es  $3,2 \text{ ml/g} \pm 0,19$ , pH 5 es  $2,9 \text{ ml/g} \pm 0,33$ , pH 6 es  $3,3 \text{ ml/g} \pm 0,22$  y pH 9 es  $3,51 \text{ ml/g} \pm 0,08$ .

La capacidad de retención de agua tiene la curva característica para el CRA de las proteínas. En el punto isoeléctrico es mínima. Esta capacidad aumenta conforme aumenta y/o disminuye el pH del punto isoeléctrico esta característica le daría al aislado proteico una capacidad de retener agua a pH ácido, por lo que puede enriquecer jugos que tienen a este pH y de igual modo a pH productos de panadería, carnes embutidas, salchichas y geles alimentarios. A pH mayores a 7 no son comunes en sistemas alimentarios.



**Figura 24:** Capacidad de retención de agua de la quinua rosada Junín

El comportamiento de los aislados fue diferente según el pH de la solución. A pH 3 la CRA es 3,5 ml/g  $\pm$  0,39; a pH 4 es 3,2 ml/g  $\pm$  0,30 a pH 5 es 2,6 ml/g  $\pm$  0,25 a pH 6 es 3,0 ml/g  $\pm$  0,09; pH 9 es 3,9 ml/g  $\pm$  0,19.

Los resultados de la capacidad de retención de agua para el aislado obtenido por Rivera, (2006), en agua (control) y en buffers de distintos pH, de modo que los valores encontrados van de un mínimo de 2,5 ml/g aislado proteico a pH 5, hasta un valor máximo de 3,0 ml agua/g aislado a pH 3.

En el aislado proteico del grano de arroz nutriar se evaluó CRA los aislados a pH 3; 6 y 9, encontró valores que osciló entre 1,67 y 9,96 ml de agua/g de muestra, valores similares a los encontrados en aislados proteicos de amaranto (Abugoch, 2006). Mientras los resultados de CRA, para el aislado proteico de quinua en la región VI Chile, menciona que no existen diferencia significativas ( $p > 0,05$ ) entre cada pH, obteniéndose un máximo a pH 4 y un mínimo a pH 7, que oscila entre 3,1 – 4,0 ml de agua por g de aislado proteico, también que el valor obtenido a pH 7 se asemeja al obtenido en agua los valores de retención de agua para el mayor aislado proteico de quinua en la región VI Chile fueron un poco mayores ( $4,0 \pm 1,3$  ml de agua/g aislado proteico) que los obtenidos para un aislado proteico de quinua obtenido a pH 9 con un máximo de  $3,0 \pm 0,6$  ml de agua/g aislado proteico (Rivera, 2006), esto se podría deber en un principio, al mayor grado de desnaturalización que presentaron las proteínas del aislado proteico a pH 11, pero el valor obtenido a pH 9 para este aislado es muy cercano al máximo, esto sugiere que para que un aislado proteico presente una alta CRA, no basta solamente con encontrarse desnaturalizado, sino que también es función de cómo se encuentran las moléculas proteicas en los agregados luego del tratamiento. Solamente aquellos agregados en que las proteínas tienen los grupos polares más accesibles al agua serán los que posean mayor CRA (Abugoch, 2006).



Por otro en su investigación Urrutia, (2010) las propiedades funcionales básicas del aislado obtenido de tarwi, encuentra valor de 98 % para la capacidad de absorción de agua tiene.

Martínez *et al.*, (2011) en aislados proteicos de maracuyá evaluaron las distintas propiedades funcionales cuyo valor para capacidad de retención de agua (CRA) es  $2,85 \pm 0,7$  ml agua/g.

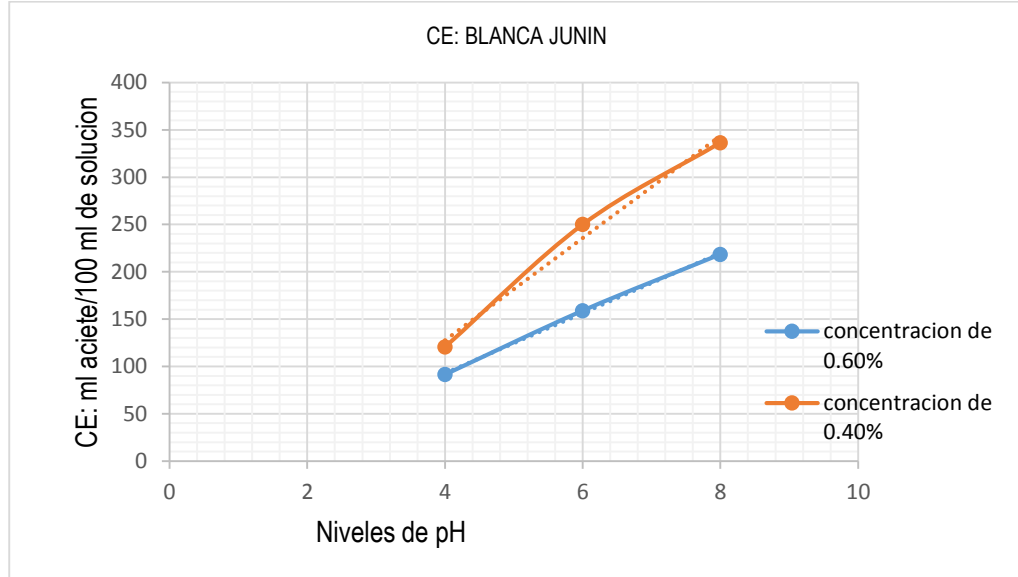
Por su parte Ávila (2011) en su Investigación de “determinación de las propiedades físicoquímicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos” Las propiedades funcionales en el aislado tiene valores para absorción de agua es 68,46 % y en el hidrolizado es 45,83 % respecto a los pH 2,0 a pH 10,0; debido a la eliminación de carbohidratos, a la ruptura de la estructura cuaternaria.

En la extracción proteica de quinua variedad blanca Junín se encontró los valores de mínimo valor a pH 5 (2,9 ml/g) y el máximo valor de pH 9 es (3,6 ml/g) de aislado proteico en la extracción proteica de quinua variedad rosada Junín se encontró el mínimo valor a pH 5 (2,6 ml/g) y el máximo valor de pH 9 (3,9 ml/g) de aislado proteico.

Con los valores encontrados se podría aprovechar el uso en el sistema alimentario para enriquecer la composición nutricional de alimentos.

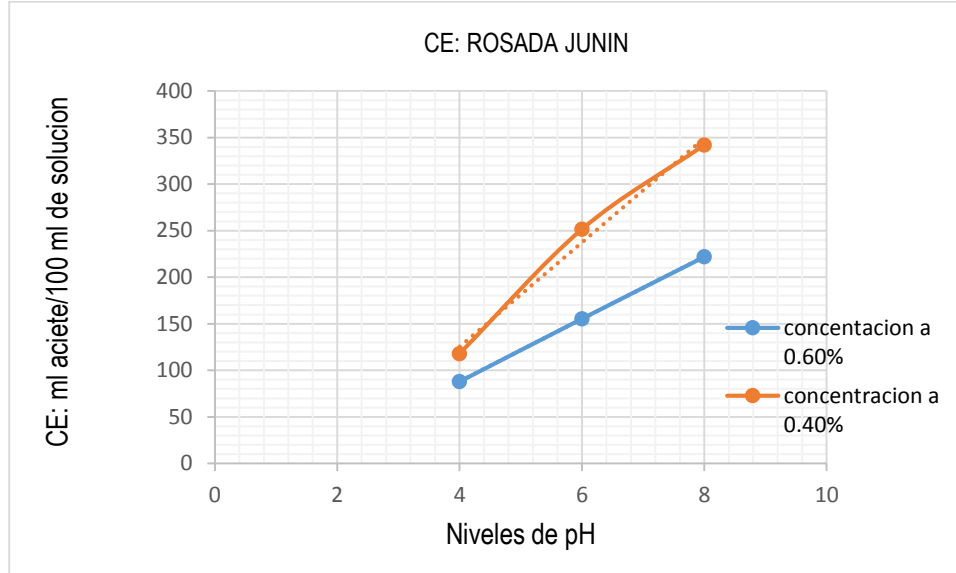
## **B. Capacidad de Emulsificación (CE)**

Los resultados de la capacidad de Emulsificación muestra la figura 25 como volumen de aceite que puede ser emulsificado por cada gramo de proteína.



**Figura 25:** capacidad de emulsión para *Chenopodium quinoa Willd* (Blanca Junín)

La capacidad de emulsión para *Chenopodium quinoa Willd* (Blanca Junín), con 0,40 % de concentración incrementa en función al aumento de pH 4; 6 y 8 (120,5 ml ± 0,20; 250 ml ± 0,30 y 336; 5 ml ± 0,12 de aceite en 100 ml de solución) mientras si la concentración es 0,60 % la capacidad de emulsión disminuye a pH 4; 6 y 8 (91,5 ml ± 0,10; 159 ml ± 0,11; 218,5 ml ± 0,09 de aceite en 100 ml de solución).



**Figura 26:** capacidad de emulsión para *Chenopodium quinoa Willd* (Rosada Junín)

La capacidad de emulsión para *Chenopodium quinoa Willd* (rosada Junín) con 0,40 % de concentración incrementa en función al aumento de pH 4,6 y 8 (118 ml ± 0,02; 251.5 ml ± 0,29 y 342 ml ± 0,38 de aceite en 100 ml de solución) mientras si la concentración es 0,60% la capacidad de emulsión disminuye con el mismo de pH 4; 6 y 8 (88 ml ± 0,1; 155,5 ml ± 0,059; 222 ml ± 0,21 de aceite en 100 ml de solución).

Cheftel (1985), afirma, que la proteína que es soluble en la fase acuosa y que la interacción en la fase hidrófoba cuando se forma la emulsión tiene una mayor oportunidad de orientarse correctamente en esta interfase para estabilizar la emulsión. Las elevadas concentraciones dificultan la expansión de las áreas hidrofobicas e hidrofílicas porque el medio está saturado. Los resultados de aislado proteico de soya. La proteína de quinua es relativamente menor la capacidad emulsificante a concentraciones de 0,4 % que van de 120 a 336 ml de aceite / 100 ml de solución, mientras el aislado proteico de soya

tiene la capacidad de emulsión entre los rangos de 125 - 355 ml de aceite / 100 ml de solución. Esto se debe a un mejor balance hidrofóbico/hidrofílico,

Villaverde, (2014), en su investigación de concentrado proteico de tarwi determina capacidad de absorción de grasa presenta 59.99 ml de aceite por cada gramo de concentrado proteico, presenta una capacidad emulsificante de 72 ml de aceite por cada 100 mg de muestra.

Los resultados de la CE del Lupino pH de 6 a 8 y concentraciones de 0,4 a 0,8% muestran que al ir incrementando el pH y la concentración y la capacidad emulsificante se incrementa. Sin embargo los resultados de las 2 variedades de quinua en estudio a concentraciones de 0,4 y 0,6%. En menor esto se explicaría a mayor concentración de proteína menor es capacidad de emulsión. Esto se debe que a mayor concentración del medio se dificulta la expansión de las áreas hidrofóbicas las que interaccionan con la fase lipídica ya que se tendría un medio saturado, por lo tanto la C.E del aislado proteico es afectada de manera directa por la concentración y el pH siendo nuestro máximo valor 342 ml de aceite a un pH de 8 y una concentración de 0,4 %.

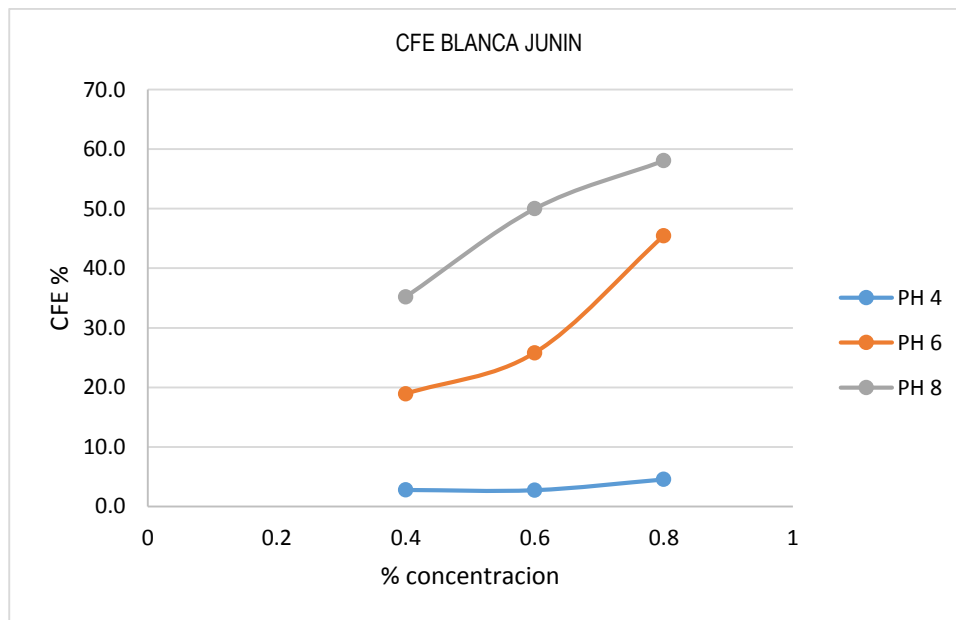
El efecto del NaCl de 1M es un efecto de estabilizante ya que favorece a que la proteína muestre con mayor facilidad sus grupos hidrofílicos e hidrófobos. (Cheftel, 1985).

Los valores experimentales de aislado e hidrolizado de soya están en el orden del 1,42 g aceite / g proteína, efecto debido a que la hidrólisis provocó grupos hidrofílicos, cambios de composición y conformación molecular (Villacrés, 2001). El aislado presentó valores más altos frente a los del hidrolizado, con un valor máximo de 1.60 g aceite / g de proteína, registrado a los 20 min de reposo. La baja capacidad de absorción de aceite en el aislado a mayor tiempo de exposición, puede deberse a la presencia de cadenas polares, los puentes hidrófobos que permiten que existan una interacción

entre las cadenas alifáticas apolares del lípido y las regiones apolares de las proteínas (Cheftel *et al.*, 1989).

### C. Capacidad de formación de espuma (CFE)

Los resultados de la capacidad de formación de espuma de los extractos proteicos de quinua variedad blanca Junín muestra la figura 27 y de la variedad rosada Junín muestra la figura 28, así mismo el comportamiento de formación de espuma en función a los pH acondicionados en la metodología.



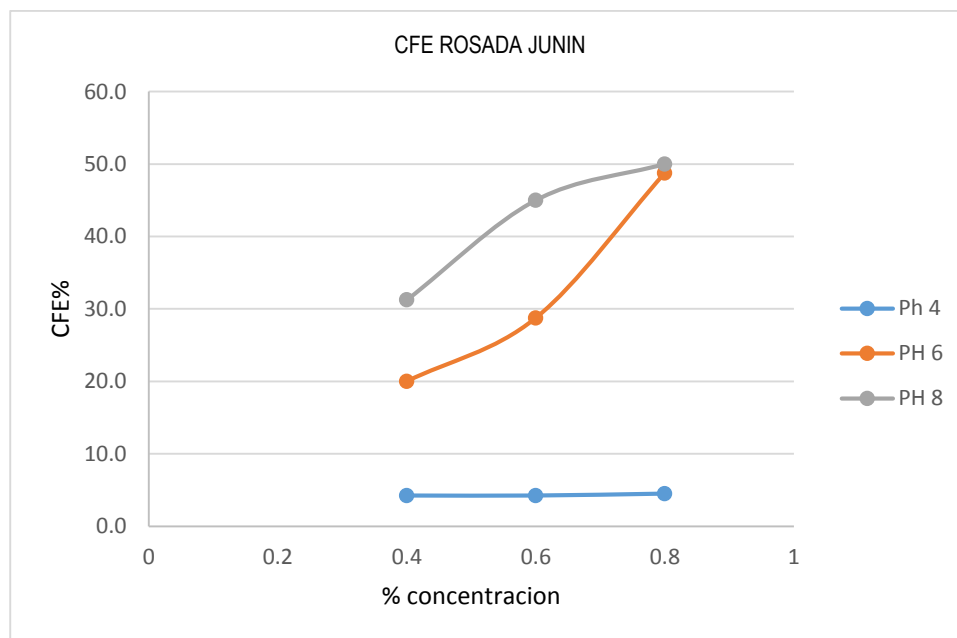
**Figura 27:** capacidad de formación de espuma de la quinua (blanca Junín)

La capacidad de formación incrementa en función a la concentración de proteína en la solución a pH 8 es ( $35,2 \% \pm 0,18 - 60 \% \pm 1,95$ ) de formación de espuma con ( $0,40 \% - 0,8 \%$ ) de proteína extraída,

a pH 6 la capacidad de formación de espuma tiene valores de (18,9 %  $\pm$  0,03 - 45,5 %  $\pm$  0,6) con (0,40 % - 0,80 %) de proteína extraída.

Mientras el mínimo valor de formación de espuma es de (2,7 %  $\pm$  0,18- 4,5 %  $\pm$  0,74) en disolución ácido a pH 4 con una concentración de 0,40 % - 0.80 % de proteína extraída

Las propiedades espumantes tienen gran relación con la solubilidad, y de esta depende para que en la proteína se presente la interacción aire – agua y conlleve a una buena formación de la propiedad espumante. Por lo general el pH debe estar por encima pero cercano al punto isoeléctrico (Liu, 1999).



**Figura 28:** capacidad de formación de espuma de quinua (rosada Junín)

La capacidad de formación de espuma incrementa en función a la concentración de proteína en la solución a pH 8 la formación de espuma es (31,3 %  $\pm$  1,2 - 50 %  $\pm$  1,2) con (0,4 % - 0,8 %) de proteína extraída, a pH 6 la capacidad de formación de espuma tiene valores de (20,0 %  $\pm$  1,1 - 48,8 %  $\pm$  1,1) con (0,40 % - 0,80 %) de proteína extraída.

Mientras el menor valor de formación de espuma es de  $(1,3 \% \pm 0,2 - 4,5 \% \pm 0,4)$  en disolución ácido a pH 4 con una concentración de  $(0,40 \% - 0,80 \%)$  de proteína extraída, esto indica a menor concentración y en solución ácido la capacidad de formación de espuma es muy bajo, sin embargo Ávila, (2011) encuentra valores del aislado proteico de soya con un incremento de espuma del 142,67 % registrado a concentraciones del 2 % al 10 %, debido a que, las proteínas globulares producen películas adsorbentes solidas muy estables, con excelentes propiedades reológicas superficiales y con una buena difusión de las proteínas solubles hacia la interfase aire – agua donde se desdobl原因, se concentran y se extienden rápidamente para así rebajar la tensión superficial. Además presenta la capacidad de formación de espuma, que fue determinada en suspensiones al 2 % para el aislado e hidrolizado de soya respectivamente, ajustados a pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 y 10,0. El incremento de volumen fue directamente proporcional con el incremento del pH, en los dos productos proteicos. El incremento de volumen de espuma en el hidrolizado valorado entre lo obtenido del 2 % al 10 % de concentración fue del 120,88 %, influenciado por la partición de la proteína de soya hidrolizada lo que mejora las propiedades espumantes, debido a que, producen un mejor desdoblamiento, concentración y tamaño de la burbuja, que permite un aumento el espesor de la película adsorbida, gracias al incremento de las interacciones proteína – proteína (Mangino, 1984).

Villaverde, (2014) En los análisis realizados logra determinar que la capacidad de formación de espuma del concentrado proteico del tarwi es de 38%, siendo el resultado diferente al aislado proteico de soya, esto difiere de acuerdo a (Wijeratnel, 1998) que menciona que las trazas de lípidos en los aislados actúan como inhibidores de la espuma y su remoción mejora las propiedades espumantes. Además Villaverde, (2014) en su investigación observa que el volumen disminuye de 156 a 78 ml al

cabo de 90 minutos en un 51,9 %. Al respecto Kinsella (1976), indica que influyen en las propiedades de espumación la presencia de lípidos y carbohidratos en la composición química de los aislados así también como el tiempo de batido, ya que hay proteínas que requieren un mayor tiempo que el de la clara de huevo para lograr una espuma estable, debido a una gran resistencia a la desnaturalización superficial; el volumen inicial de espuma no está relacionada con su estabilidad.

En su estudio Salgado (2009), Propiedades espumantes de proteínas de girasol con parámetros evaluados dispersión (0,5-5 %); pH 1,5 - 10,5; Temperatura de 15 – 60 °C; capacidad de formación de espuma cuyo máxima expansión de la espuma es a pH 7,5 no hay efecto de la temperatura; aislado de girasol con mayores capacidad de formación.

En el aislado proteico de tarwi el volumen disminuye de 156 a 78 ml al cabo de 90 minutos en un 51,9 %. Sin embargo la capacidad espumante resultó siendo 78 %, el cual es relativamente bajo con respecto a los valores reportados por otros aislados proteicos. (Urrutia, 2010).

Finalmente Martínez *et al.*, (2011) en el aislados proteicos de maracuyá (*Passiflora edulis f*)” encuentra valores para Capacidad de formación de espuma (CFE) para aislados obtenidos 98,8 % con una solución de 2 % de NaCl con las demás concentraciones salinas son bajas.



## IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. CONCLUSIONES

- El estudio de la influencia de pH en la extracción del aislado proteico de quinua variedad blanca Junín y rosada Junín demuestra que los niveles de pH alcalino en la solubilización de proteína tienen efecto estadísticamente significativo en la extracción de la proteína en la quinua de las variedades blanca Junín y rosada Junín, sin embargo los niveles para la precipitación proteica a pH ácido no influye en la extracción de proteína es decir los niveles de pH ácido son iguales estadísticamente para la extracción de la proteína.
- A partir de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad blanca Junín) se pudo extraer proteína con mayor rendimiento frente a tarwi, soya y otros fuentes vegetales en condiciones a pH 8.5 de solubilización y pH 4.5 de precipitación proteico obteniendo mayor contenido de proteína en la muestra, mientras para *Chenopodium quinoa Willd* variedad rosada Junín se pudo extraer un mayor valor en rendimiento en condiciones a pH 9,0 de solubilización y pH 4,5 de precipitación proteica con alto contenido de proteína en la muestra.
- Se realizó el análisis el perfil de aminoácido de la proteína extraída de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad blanca Junín) y de la proteína extraída de *Chenopodium quinoa Willd* (variedad rosada Junín), encontrándose en la muestra de estudio los siguientes aminoácidos. La fenilalanina, lisina, glicina, ácido glutámico, arginina, leucina, histidina, ácido aspártico, serina, alanina, metionina, treonina, valina, isoleucina y prolina.
- Se determinó las propiedades tecnofuncionales de proteína extraída de *Chenopodium quinoa Willd* para su uso en los alimentos de la variedad blanca Junín y variedad rosada Junín,

información que pueda resultar en una nueva fuente proteica de alto valor nutricional con posible utilización como un ingrediente funcional en la formulación de alimentos.

La capacidad de retención de agua es mayor en condiciones a pH 9,0 para ambas variedades, lo cual actúa como retensor en los productos elaborados, mientras la capacidad de emulsión que se suspendieron las muestras a pH 8,0 y mayor concentración de proteína extraída, las proteínas mostraron una capacidad superior para formar emulsiones. La que se atribuyó al desplegamiento y aumento de la flexibilidad de los polipéptidos, y a la mayor posibilidad de interacción entre moléculas en la interfase. Finalmente basándose en los efectos que produce el tratamiento ácido y alcalino a distintas condiciones de pH, resulta evidente a pH 8 y mayor concentración de proteína extraída es favorable para mejorarlas propiedades funcionales de superficie. El hecho de poder disociar y desplegar esa gran estructura que poseen las proteínas originalmente, y de darle más libertad y flexibilidad a los polipéptidos, hace que aumente la capacidad de los mismos para la formación de espumas.

- Estas opciones se plantean a efectos de obtener nuevos ingredientes de fuentes proteicas alternativas con una funcionalidad específica y un buen valor nutricional para su utilización en la formulación de alimentos.

## 4.2. RECOMENDACIONES

- Con los resultados alcanzados de extracto proteico de *Chenopodium quinoa Willd* variedad rosada Junín y variedad blanca Junín se recomienda elaborar producto alimentario que permita aprovechar sus propiedades funcionales y comprobar sus distintos beneficios y aceptabilidad del consumidor.
- Aislar proteína de quinua con otros métodos de extracción que permita mejorar el rendimiento del contenido de proteínas (ultrafiltración, micelización, hidrólisis enzimática).
- Realizar estudios del valor económico de producción para la comercialización de proteína extraída de quinua.
- Realizar investigaciones a nivel estructural, para la cualificación de aminoácidos, así mismo hacer estudios de digestibilidad, valor biológico, etc.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, G. (2001).** *Estudio de pre factibilidad técnico económico para la obtención de hidrolizado de proteína vegetal a partir de lupino.* Departamento de Ingeniería Química, Universidad de la Frontera - Chile.
- Albarrán, R. (1993).** *Estudio de Algunos Componentes Químicos, Caracteres Morfoanatómicos y Patrones Proteicos en Semillas de dos Ecotipos de Quinoa (Chenopodium quinoa Willd).* Memoria de Tesis para optar título Profesional de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán - Chile.
- Aluko, R.; Monu, E. (2003).** *Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolysates* Journal of Food Science.
- A.O.A.C. (2005).** *Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis*, 8va edición, Editorial A.O.A.C. International, Estados Unidos.
- Anglemeir, A.; Montgomery, M. (1982).** *Introducción a la Ciencia de Alimentos - Aminoácidos, péptidos y proteínas*, Editorial Reverté, S.A, Barcelon- España.
- Ávila, C. (2011).** *Determinación de las propiedades físico – químicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos.* Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional Quito – Ecuador.
- Arango, O.; Bolaños, V.; Ricaurte, D.; Caicedo, M. (2012).** Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrinaedulis*) Revista Universidad y salud.

- Ayala, G. (2005).** Proteína de soya, Soypro, <http://www.quiminet.com/ar2/ar.html>, (12 julio, 2014).
- Badui, S. (2006).** *Química de Alimentos*. Editorial Alambra. Cuarta edición. Distrito Federal – México.
- Berg, J.; Tymoczko, J.; Stryer, L. (2004).** *Bioquímica*, 5ta edición, Editorial Reverté S.A., Barcelona, España.
- Bohinski, R. (1991).** *Bioquímica*, 5ta edición, Editorial Adisson Wesley Iberoamérica, S.A., Estados Unidos.
- Boyer, R. (2000).** “Conceptos de Bioquímica”, Internacional Thomson Editores S.A., Buenos Aires, Argentina.
- Blanco, A. (2007).** “Química Biológica”, 8va edición, Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- Braverman, J.; Berk, Z. (1980).** “Introducción a la Bioquímica de Alimentos” México. Editorial El Manual Moderno.
- Blecker, C. (1997).** *Improved Emulsifying and Foaming of Whey Proteins Alter Enzymic Fat Hidrolysis. Journal Food Science.*
- Byong, H. (2000).** “Fundamentos de la biotecnología en alimentos”, 1era Edición, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Campbell, P.; Smith, A.; Peters, T. (2006).** “Bioquímica y biología molecular en la era posgenómica”, 5ta edición, Editorial Masson, S.A., Barcelona España.

- Carrasco, E.; Soto, J. (2010).** *Importancia de los granos andinos – Granos Andinos: Avances, logros y experiencias desarrolladas en quinua, cañahua y amaranto en Bolivia*; Biodiversity International, Roma, Italia.
- CIED. (2004).** “*Quinoa: Chenopodium quinoa Willdenow*” [En línea] Lima, Perú. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo. <<http://www.ciedperu.org/productos/quinua.htm>> [consulta: 25 mayo 2014].
- CIED. (s.f).** Centro de Investigación, Educación y Desarrollo. Quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) [en línea].<<http://www.ciedperu.org/productos/quinua.htm>> [consulta: 20 de abril de 2014].
- Castel, M. (2010),** *Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto*, Tesis para la obtención del Grado Académico de magíster en ciencia y tecnología de alimentos, facultad de ingeniería química de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Cheftel, J.; Cuq, J.; Lorient, D. (1989).** “*Proteínas Alimentarias: Bioquímica. Propiedades funcionales. Valor nutritivo. Modificaciones químicas*”, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Callisaya, J.; Alvarado, J. (2009).** *Aislados proteínicos de granos altoandinos chenopodiaceas; quinua “chenopodium quinoa” – cañahua “chenopodium pallidicaule” por precipitación isoeléctrica* revista Boliviana de química no.1 volumen 26, Bolivia.
- Chang, R. (2010).** *Química*, 10ma edición McGraw-Hill – Mexico.
- Chauhan, G.; Eskin, N.; Tkachuk, R. (1997)** “*Nutrients and Antinutrients in Quinoa Seed*” Cereal Chemistry.

**Chau, C.; Cheung, K.; Wong, Y. (2003).** “*Funtional Properties of Protein Concentrates from Three Chinese Indigenius Legume Seed*”, J. Agr. and Food Chem.

**Diario Pyme (2003).** “Acuerdo busca introducir quínoa en Europa” [En línea] Santiago, Chile. Diario de la Pequeña y mediana empresa.<<http://www.diariopyme.cl/newtenberg/1550/article-56781.html>> [consulta: 10 mayo 2014].

**Dick, J. (1973).** *Química analítica*, manual moderno - México

**Drzewiecki, J.; Delgado, E.; Haruenkit, R.; et al. (2003).** *Identification and differences of total proteins and their soluble fractions in some pseudocereals based on electrophoretic patterns* Agricultural and Food Chemistry.

**FAO. (1990).** *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.*

**FAO. (1992).** Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. “Manual sobre utilización de los cultivos Andinos sub-explotados en la alimentación” Santiago, Chile.

**FAO. (2011).** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Stats (<http://faostat.fao.org>).

**Fennema, O. (2000).** *Química de los alimentos*. Segunda Edición. Zaragoza - España.

**Fontúrbel, F. (2003).** *Problemática de la Producción y Comercialización de Chenopodium Quínoa W. debida a la Presencia de las Saponinas*”. [en línea] <http://cabierta.uchile.cl/revista/21/articulos/pdf/paper6.pdf> [consulta: 01 de setiembre de 2013].

- Genovese, M.; Lajolo, F. (2000).** *Caracterización Funcional y Estructural de Proteínas* 1ra edición. Editorial Universitaria de Buenos Aires, Buenos Aires - Argentina..
- Goncalves, N.; Vioque, J.; Clemente, A. (1997).** *Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza* Departamento de Fisiología y Tecnología de Productos Vegetales. Instituto de la Grasa, Sevilla - España.
- González, C. (2000).** *Nuevo Reglamento Sanitario de los Alimentos* Decreto Supremo N°977. Santiago, Chile. Ediciones Publiley, Editora Jurídica Manuel Montt S.A.
- Gutiérrez, H.; De la Vara, R. (2008).** *Análisis y diseño de experimentos*. 2da ed., Ed. McGraw –Hill interamericana editores S.A. México.
- Guerrero, D. (1989).** *Obtención de un aislado proteico a partir de Germen de Quinoa (Chenopodium quínoa willd) desgrasado*. Universidad Agraria La Molina, lima - Perú
- Jara, P. (2004).** Productor de quinua de la IV región de Chile.
- Junge, I.; Cerda, P. (1978).** *Estado Actual de las Investigaciones sobre Quinoa para la Alimentación Humana. Alimentos*.
- Harvey, R.; Champe, P.; Ferrier, D. (2006).** *Bioquímica*, 3 era edición, Editorial Mc-Graw Hill Interamericana - México.
- Kinsella, J.; Whitehead, D. (1989).** *Proteins in Whey: Chemical, physical and functional properties*, Advances in food and Nutrition Research.



- Koechlin, F.; Blueridge, I. (2000).** *Ingeniería genética versus agricultura orgánica* Federación internacional de movimientos de agricultura orgánica (INFOAM), Switzerland.
- Lehninger, A. (1981).** *Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular*, 2da edición, Editorial Pueblo y Educación, Baltimore, Estados Unidos, Ogungbenle, H. "Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour" *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.
- Linden, G.; Lorient, D. (1996).** *Bioquímica Agroindustrial*, 1era edición, Editorial Acribia S.A., Zaragoza - España.
- Luque, G.; Victoria, M. (2009).** *Estructura y propiedades de las proteínas*. Centro de investigaciones. Universidad de Valencia – España.
- Martínez, J. (2011).** *Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuyá (*Passiflora edulis* f).* Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona – Colombia.
- Medrano, R. (1990).** *Obtención de principios nutricionales y terapéuticos de la semilla de tarwi*, Facultad de ciencias y Tecnología UMSS, Cochabamba - Bolivia.
- MINAG. (2013).** Dirección General de Competitividad Agraria- Perú.
- MINAG. (2014).** *Cadena agroproductiva de la Quinoa* - Perú.
- Mujica, A. (1988).** *Parámetros genéticos e índices de selección en quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)* tesis de doctor en ciencias, colegio de posgraduados, centro de genética. Montecillos – México.

- Mujica, A.; Izquierdo, J.; Marathee, J. (2001).** Cultivos Andinos FAO- Versión 1.0. Capítulo I. Origen y descripción de la quinua Disponible en:  
<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/cap1.htm#5>
- Murray, K.; Granner, D.; Meyes, A.; Rodwell, W. (2005).** *Bioquímica de Harper*. Editorial Acribia. Zaragoza - España.
- Mustakas y Sohns. (1976).** *Soy Processes, Equipment, Capital and Processing Costs en U.S Farmer Cooperative Service Edible Soy Protein. Operational Aspects of Producing and Marketing. Research Report 33, EE.UU.*
- Ogungbenle, H. (2003).** Nutritional Evaluation and Functional Properties of Quinoa (Chenopodium quinua) flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.
- PDC. MDSMCH. (2011).** *La agricultura Cultivos de la zona Plan desarrollo concertado municipalidad distrital de Santa María de Chicmo, provincia Andahuaylas, Apurímac - Perú.*
- Peña, A. (2004).** *Bioquímica*, 2da edición, Editorial Limusa S.A., México.
- Pincioli, M. (2010).** *Proteínas de arroz propiedades estructurales y funcionales* Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Alimentos (CIDCA) calle, La Plata, Buenos Aires – Argentina.
- Pino, A. (1998).** *Contenido de proteínas, saponinas y algunas características del almidón en semillas de quinoa sembradas en diferentes fechas localidades* Tesis (Ingeniero Agrónomo). Concepción, Chile. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía.

- Prego, I.; Maldonado, S.; Otegui, M. (1998).** *Seed Structure and Localization of Reserves in Chenopodium quinoa* Annals of Botany.
- Primo, E. (1997).** *Química Agrícola III*. Ed. Alhambra. Madrid- España.
- Sica. (2001).** Producción Orgánica de Quinoa en Quito, Servicio de información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador.
- Rivera, M. (2006).** Obtención, caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de un aislado proteico de quinoa orgánica (*Chenopodium quinoa*). Memoria para optar al título profesional de Ingeniero en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile – Chile.
- Revista (S.F.).** *Quinoa el Grano de los Andes*". La Paz - Bolivia.
- Revista, (2013).** Especial del cultivo de quinoa revista técnica agropecuario 7 AGROBANCO y la quinoa – Perú.
- Salazar, J. (2004).** *Empleo de Fuentes Proteicas Vegetales en la Elaboración de Yogur Batido y su Efecto sobre las Características Físicoquímicas, Microbiológicas y Organolépticas*. Universidad Agraria La Molina, lima – Perú.
- Salgado, P. (2009).** *Proteínas de Girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria* Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata – Argentina.

- Sandoval, M. (2012).** *Aislamiento y caracterización de las proteínas de reserva de chíá (salvia hispanica)*. Tesis de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro Santiago de Querétaro – México.
- Sandoval, E.; Quintero A.; Ayala, A. (2005).** Reología y textura de masas: Aplicaciones en trigo y maíz, Ingeniería e Investigación.
- Sathe, S.; Salunkhe, D. (1981).** *Evaluación de las propiedades funcionales del frijol norteño: la emulsión, espumando, viscosidad y gelificación* Las Mercedes, Caracas – Venezuela.
- Sepúlveda, J.; Thomet, M.; Palazuelos, P.; Mujica, M. (2004)** *La Kinwa Mapuche. Recuperación de un cultivo para la alimentación*, Temuco - Chile.
- Severo, P., (2010).** *Estadística experimental: aplicada a la ciencia e ingeniería*, 1ra. Edición, Editorial Concytec, Lima - Perú.
- Silingo, A. (2002).** *Propiedades estructurales y funcionales de aislados proteicos de soja modificados. Efecto de la presencia de calcio*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Ciencias Biológicas.
- Sosa, C. (2000).** *Influencia de dos métodos de extracción de un aislado proteico de Lupino (Lupinus mutabilis) en sus propiedades funcionales*. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina – Perú.
- Schmidt, H. (1992).** *Avances en ciencia y tecnología de los alimentos*, Santiago-Chile.
- Tapia, M.; Morón, C.; Ayala, G.; Fries, A. (2006).** *Valor nutritivo y patrones de consumo. Cultivos Andinos*- FAO. Bogotá - Colombia.

- Tapia, M.; Gandarillas, H.; Alandia, S.; et al. (1979).** La Quinoa y la Kañiwa: Cultivos Andinos Editorial IICA. Bogotá - Colombia.
- Teijón, J. (2006).** Fundamentos de bioquímica estructural Editorial Tebar, Volumen 1.
- Torún, B. (1985).** *Proteínas: química, metabolismo y requerimientos nutricionales*, New York-EE.UU.
- Ugarte, J. (2001).** *Utilización de bixina del achiote (bixaorellana l.) como pigmentante de alimento balanceado tipo acabado para truchas (oncorhynchusmykiss).*
- Urrutia, W. (2010).** *Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (lupinus mutabilis).* Memoria de tesis para optar el título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay – Perú.
- Vaclavik, V. (2002).** *Fundamentos de Ciencia de los Alimentos*, 1era edición, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Ventura, M. (2003).** *Obtención de aislado proteico de la nuez del marañón (Anacardium Occidentale L.).* Universidad Agraria La Molina, lima – Perú.
- Vieira, R. (2003).** *Fundamentos de bioquímica.* Edición electrónica. Belém, Pará.
- Villanueva, A.; Vioque, R.; Clemente, A.; et al. (2001).** Caracterización bioquímica de hidrolizados enzimáticos a partir de aislado proteico de *Lupinus mutabilis*. Instituto de la Grasa. Sevilla-España.

**Villaverde, S. (2011).** *Evaluación de las propiedades funcionales del concentrado proteico del tarwi (lupinus mutabilis) y su uso como extensor cárnico de jamonada tesis para optar el título profesional de ingeniero en industrias alimentaria huancayo – Perú.*

**Vioque, J.; Sánchez, R.; Clemente, A.; et al. (2001).** *Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos.* Instituto de la Grasa. Sevilla - España.

**Wang, M.; Hettiarachchy, N.; Qi M.; et al. (1999).** Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*

**Zamudio, T. (2003).** *Quinoa* Programa Panamericano de Defensa y Desarrollo de la Diversidad biológica cultural y social. Buenos Aires, Argentina. ProDiversitas. <<http://www.prodiversitas.bioetica.org/quinua.htm>> [consulta: 23 abril 2014].

## VI. ANEXO

### ANEXO 1: Imagen del material de estudio y proceso de extracción de proteína

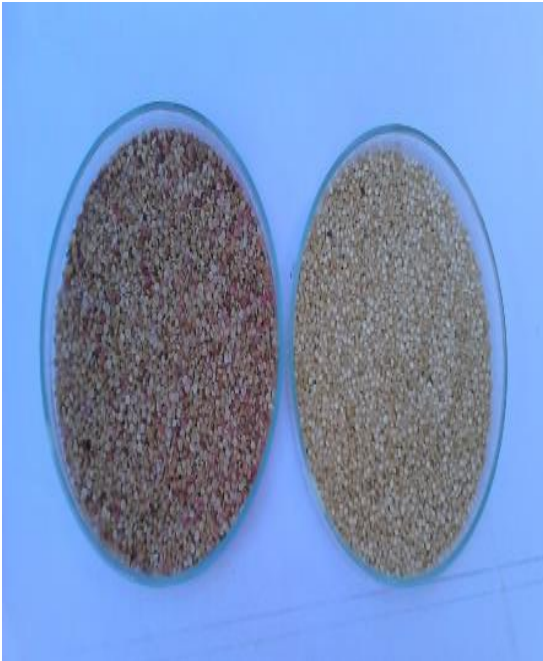
CULTIVO DE QUINUA VARIEDAD BLANCA JUNIN



CULTIVO DE QUINUA VARIEDAD ROSADA JUNIN



GRANO DE QUINUA VARIEDAD BLANCA JUNIN Y ROSADA JUNIN



MOLINO DE MARTILLO



**TAMIZADO DE QUINUA**



**MUESTRA PARA ESTUDIO**



**EQUIPO SOXLET**



**SOLIBILIZACION DE PROTEINA**

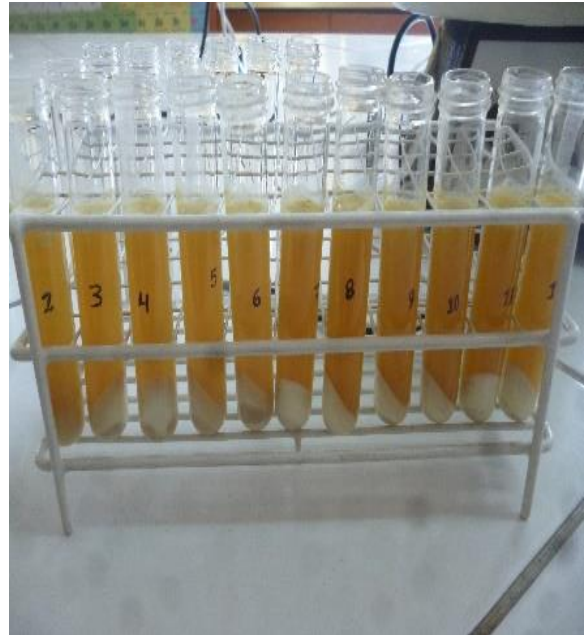




**CENTRIFUGA A 4000 rpm**



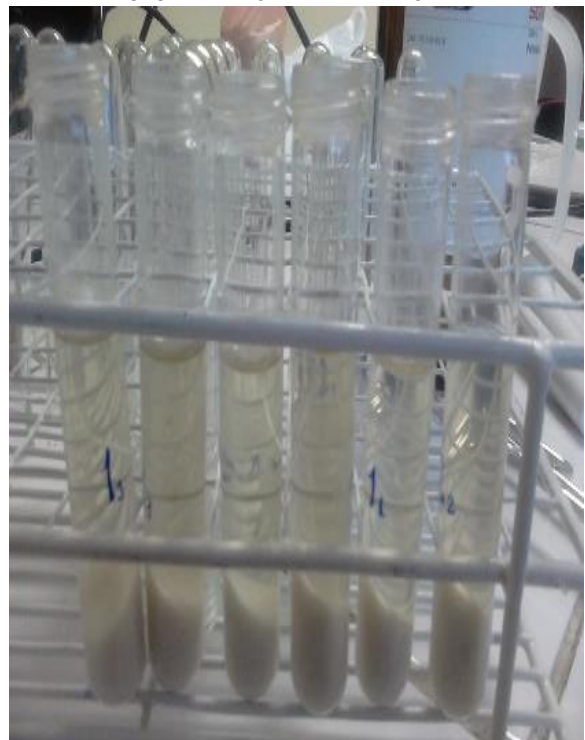
**MUESTRA SOLUBILIZADA**



**CENTRIFUGACION**



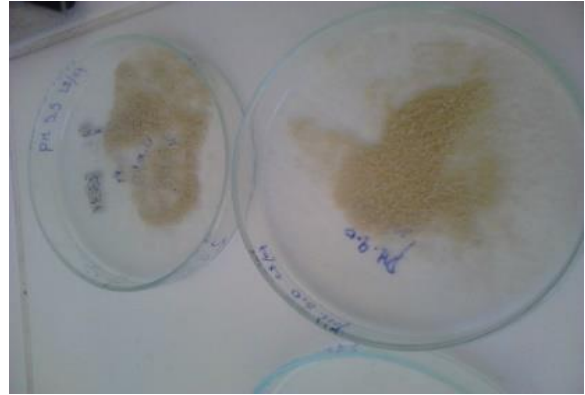
**MUESTRA PRECIPITADA LA PROTEINA**



**EXTRACTO DE AISLADO PROTEICO EN BASE HUMEDA**



**PROTEÍNA SECADO**



**AISLADO PROTEICO DE QUINUA**



**PROPIEDAD TECNOCIONAL (CRA)**



**PROPIEDAD TECNOCIONAL (CE)**



**PROPIEDAD TECNOCIONAL (CFE)**



## ANEXO 2: Imagen del proceso de análisis de perfil de aminoácidos

MUESTRA PULVERIZADA



ACONDICINAMIENTO DE LA MUESTRA A pH 5



HIDROLISIS DE PROTEINA



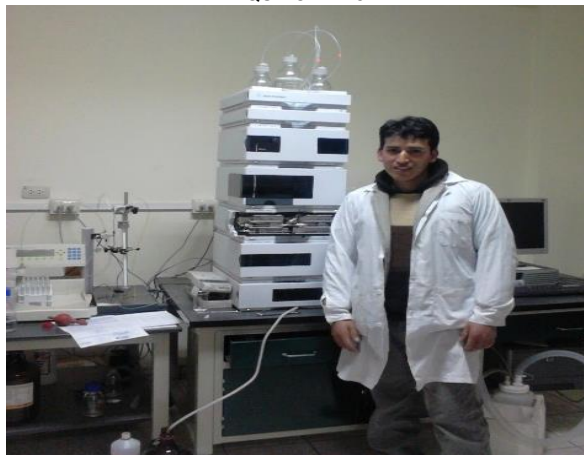
ESTUFA (110°C) x 24 HORAS



VIALES PARA CUANTIFICAR PROTEINA



EQUIPO HPLC



### ANEXO 3: Procedimiento de la determinación de proteínas por el método de Kjeldahl

#### ✓ Preparación de la muestra

- Triturar, homogeneizar y mezclar la muestra.
- Pesar entre 0.1 a 0.15 gramos de muestra.

#### ✓ Digestión

Añadir entre 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96-98% y 1 tableta (8 gm) de catalizador.

Montar un sistema para la extracción de humos o scrubber con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

Pesar entre 0.1 a 0.15 g de producto bien homogenizado, pasar a un balón de digestión, agregar catalizador sulfato de Cobre pentahidratado luego el Ácido Sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 96-98%) una cantidad de 3ml. luego digestar a una temperatura de 130°C, hasta que la solución este clara o un ligero amarillo.

#### ✓ Destilación

Se procede a destilar en un equipo de destilación por arrastre de vapor, que consiste en un generador de vapor un balón de destilación por arrastre de vapor donde se coloca la muestra ya digerida con ácido, está conectado a un sistema de refrigeración y se recoge en erlenmeyer que contiene Ácido Bórico al 2.5% (10 cc) que contiene además un indicador (mixto, que consta de Verde de Bromo Cresol y Rojo de Metilo en una proporción de 2:1) lo cual se adiciona unas tres gotas.

#### ✓ Titulación

Luego se procede a valorar con una solución de Ácido Sulfúrico de concentración 0.01N, hasta que vire del verde al rojo, se anota el volumen gastado que sirve para los cálculos.

Cálculo y expresión de resultados.

$$\%N = \frac{N \times V \times 14 \times 100 \times \text{Factor}}{m \times 1000}$$

Donde:

V = volumen gastado del ácido sulfúrico.

N = Normalidad del ácido sulfúrico.

m = peso de muestra en gramos.

Factor: 6,25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general.

5,85: para cereales y derivados de soya.

#### **ANEXO 4: Procedimiento de Análisis del perfil de aminoácidos esenciales**

Se cuantifico el aminoácido esencial por el Método de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) descrita por Agilent Zorbax Eclipse AAA.

##### **a. Preparación de la muestra**

- Se pulverizó las muestras de *Chenopodium quinoa Willd* (quinua), variedades Blanca Junín y Rosada Junín.
- Se pesó 0,1 cada una de las muestras y se colocó en viales de 20ml de capacidad, luego se añadió 10ml de HCl 6N, se sella el vial.
- Se realizó la hidrólisis por 24 horas a 100°C., luego se centrifugo, se separó el sobrenadante, se realizó una dilución 3:5 con agua destilada luego fue centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos y pasado por un filtro de 0,45 de porosidad., se colocó un ml en un vial ámbar, luego se analiza por HPLC.

##### **b. Análisis por HPLC**

- Las condiciones para el análisis por HPLC, se siguió la metodología descrita por Agilent Zorbax se ha realizado con un cromatógrafo HPLC Agilent 1200 con desgasificador en línea, bomba binaria, inyector automático programable, termostizador de columna, detector por arreglo de diodos DAD.
- La columna que se utilizó Agilent Zorbax Eclipse 4,6 mm × 75 mm, 3,5 µm, pre columna Zorbax Eclipse 12mm x 4,6mm x 5 C18, Solvente A: Buffer fosfato de potasio monobásico NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a pH 7,8., Solvente B: Acetonitrilo, metano y agua (45; 45; 10 v/v/v), Temperatura de análisis 40 °C.

- Gradiente de análisis 0,00 a 3.80 min, 0 % de B; a 36 min, 57 % de B; de 37 a 44,60 min 100 % de B, 44,60 a 54 min 0 % de B. Detector: se ha realizado a 262 y 336 a un flujo de 1 ml/min. Tiempo de análisis 55 minutos.
- Se derivatizó usando ortoftaldeido (OPA) para los aminoácidos primarios y fluorometilcloroformiato de metilo (FMOC) para los aminoácidos secundarios. La combinación de este protocolo permite un rápido pre-derivatización de aminoácidos. La mezcla de reacción es taponada a pH 10,2 que permite el análisis directo.

## ANEXO 5: Replicas de los datos experimentales de quinua variedad blanca Junín.

Trat	pH alcalino	pH ácido	muestra 1	asilado 1°	Rdb 1	muestra 2	aislado 2°	Rdb 2	muestra 3	asilado 3°	Rdb 3	RDTO Promedio del extracto
T1	8,0	3,0	3.2571	0,513	15.73%	11.2500	4,498	39.98%	3.3200	1,156	34.83%	<b>30.18%</b>
T2	8,0	3,5	3.2570	0,631	19.38%	11.1600	4,457	39.93%	3.3200	1,211	36.48%	<b>31.93%</b>
T3	8,0	4,0	3.2570	0,519	15.92%	10.8700	4,434	40.79%	3.3200	1,341	40.40%	<b>32.37%</b>
T4	8,0	4,5	3.2571	0,621	19.06%	11.1500	4,347	38.98%	3.3200	1,222	36.81%	<b>31.62%</b>
T5	8,0	5,0	4.3428	0,695	16.00%	11.2500	4,478	39.80%	3.3200	1,133	34.13%	<b>29.98%</b>
T6	8,0	5,5	4.3428	0,609	14.03%	11.1800	4,500	40.25%	3.3200	1,223	36.84%	<b>30.37%</b>
T7	8,5	3,0	3.1735	0,733	23.11%	11.1300	4,163	37.41%	6.4563	2,635	40.81%	<b>33.77%</b>
T8	8,5	3,5	3.1735	0,831	26.19%	10.5700	4,103	38.82%	6.8345	2,545	37.24%	<b>34.08%</b>
T9	8,5	4,0	3.1735	0,861	27.13%	11.2500	4,903	43.58%	6.5678	2,725	41.49%	<b>37.40%</b>
T10	8,5	4,5	3.1735	0,874	27.53%	11.0130	4,791	43.50%	6.2340	2,641	42.37%	<b>37.80%</b>
T11	8,5	5,0	3.1735	0,792	24.96%	11.3600	4,455	39.21%	7.0000	2,202	31.46%	<b>31.88%</b>
T12	8,5	5,5	3.1735	0,679	21.40%	11.2500	4,795	42.62%	6.5463	2,519	38.48%	<b>34.17%</b>
T13	9,0	3,0	3.2808	0,624	19.01%	3.5093	1,093	31.16%	3.4869	1,136	32.58%	<b>27.58%</b>
T14	9,0	3,5	3.2808	0,651	19.84%	3.5093	1,238	35.28%	3.4869	1,321	37.88%	<b>31.00%</b>
T15	9,0	4,0	3.2808	0,677	20.62%	3.5093	1,359	38.72%	3.4869	1,298	37.23%	<b>32.19%</b>
T16	9,0	4,5	3.2808	0,677	20.64%	3.5093	1,184	33.73%	3.4869	1,342	38.49%	<b>30.95%</b>
T17	9,0	5,0	4.3743	0,641	14.65%	3.5093	1,032	29.41%	3.4869	1,231	35.30%	<b>26.45%</b>
T18	9,0	5,5	4.3743	0,602	13.76%	3.5093	0,984	28.04%	3.4869	1,200	34.42%	<b>25.41%</b>
T19	9,5	3,0	3.3509	0,403	12.04%	3.3702	1,092	32.41%	3.3462	1,040	31.08%	<b>25.18%</b>
T20	9,5	3,5	3.3509	0,441	13.16%	3.3702	1,144	33.94%	3.3462	1,127	33.68%	<b>26.93%</b>
T21	9,5	4,0	3.3509	0,451	13.46%	3.3702	1,239	36.76%	3.3462	1,319	39.42%	<b>29.88%</b>
T22	9,5	4,5	3.3509	0,404	12.05%	3.3702	1,481	43.94%	3.3462	1,564	46.74%	<b>34.24%</b>
T23	9,5	5,0	3.3509	0,412	12.30%	3.3702	1,474	43.74%	3.3462	1,523	45.51%	<b>33.85%</b>
T24	9,5	5,5	3.3509	0,435	12.98%	3.3702	1,304	38.69%	3.3462	1,311	39.18%	<b>30.29%</b>
T25	10,0	3,0	3.3354	0,408	12.24%	3.4554	0,523	15.15%	3.3633	0,563	16.75%	<b>14.71%</b>
T26	10,0	3,5	3.3354	0,448	13.42%	3.4554	0,657	19.01%	3.3633	0,603	17.95%	<b>16.79%</b>
T27	10,0	4,0	3.3354	0,471	14.12%	3.4554	0,745	21.57%	3.3633	0,712	21.17%	<b>18.95%</b>
T28	10,0	4,5	3.3354	0,535	16.03%	3.4554	0,731	21.17%	3.3633	0,778	23.13%	<b>20.11%</b>
T29	10,0	5,0	3.3354	0,556	16.68%	3.4554	0,709	20.51%	3.3633	0,740	22.00%	<b>19.73%</b>
T30	10,0	5,5	3.3354	0,489	14.68%	3.4554	0,718	20.79%	3.3633	0,736	21.87%	<b>19.11%</b>
T31	10,5	3,0	2.7083	0,421	15.54%	3.6984	0,868	23.49%	3.6450	1,083	29.72%	<b>22.92%</b>
T32	10,5	3,5	2.7083	0,431	15.90%	3.6984	0,982	26.56%	3.6450	1,097	30.10%	<b>24.18%</b>
T33	10,5	4,0	2.7083	0,581	21.45%	3.6984	0,968	26.17%	3.6450	1,062	29.14%	<b>25.59%</b>
T34	10,5	4,5	2.7083	0,364	13.45%	3.6984	0,856	23.13%	3.6450	1,068	29.29%	<b>21.96%</b>
T35	10,5	5,0	3.6110	0,417	11.56%	4.9312	0,835	16.93%	4.8600	1,073	22.09%	<b>16.86%</b>
T36	10,5	5,5	3.6110	0,510	14.13%	4.9312	0,863	17.49%	4.8600	1,063	21.88%	<b>17.84%</b>

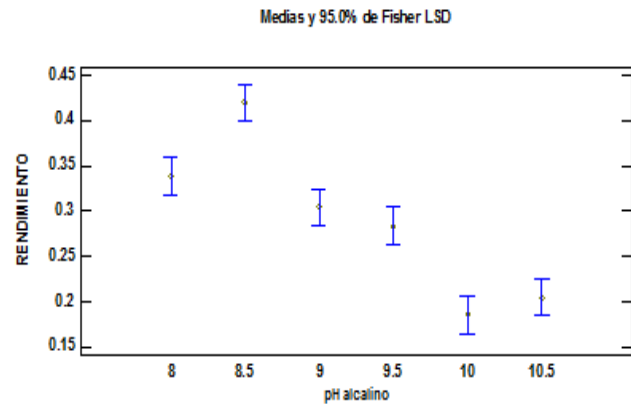
**ANEXO 6: ANOVA Y LSD para rendimiento proteico de variedad blanca Junín**

**Pruebas de Múltiple Rangos para rendimiento por pH alcalino**

pH alcalino	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
10	18	0,1824	0,0239	X
10,5	18	0,2156	0,0239	X
9	18	0,2893	0,0239	X
9,5	18	0,3006	0,0239	X
8	18	0,3107	0,0239	X
8,5	18	0,3485	0,0239	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
8 – 8,5		-0,0378	0,0675
8 - 9		0,0214	0,0675
8 – 9,5		0,0101	0,0675
8 – 10	*	0,1284	0,0675
8 – 10,5	*	0,0952	0,0675
8,5 – 9		0,0592	0,0675
8,5 – 9,5		0,0479	0,0675
8,5 - 10	*	0,1661	0,0675
8,5 – 10,5	*	0,1329	0,0675
9 – 9,5		-0,0113	0,0675
9 - 10	*	0,1069	0,0675
9 - 10,5	*	0,0737	0,0675
9,5 - 10	*	0,1182	0,0675
9,5 – 10,5	*	0,0850	0,0675
10 – 10,5		-0,0332	0,0675

\* indica una diferencia significativa.



**Pruebas de Múltiple Rangos para rendimiento por pH ácido**

pH ácido	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	18	0,2572	0,0239	X
5,5	18	0,2619	0,0239	X
5	18	0,2646	0,0239	X
3,5	18	0,2749	0,0239	X
4	18	0,2939	0,0239	X
4.5	18	0,2945	0,0239	X



## ANEXO 7: Replicas de los datos experimentales de quinua variedad rosada Junín

Trat	pH alcalino	pH ácido	muestra 1	asilado 1°	Rdb 1	muestra 2	aislado 2°	Rdb 2	muestra 3	aislado 3°	Rdb 3	RDTO Promedio del extracto proteico
T1	8,0	3,0	3.0258	0,323	10,69%	3.4523	0,750	21,72%	3.3630	0,609	18,13%	16,85%
T2	8,0	3,5	3.0258	0,368	12,16%	3.4523	0,695	20,13%	3.3630	0,614	18,26%	16,85%
T3	8,0	4,0	3.0258	0,472	15,61%	3.4523	0,730	21,15%	3.3630	0,623	18,52%	18,43%
T4	8,0	4,5	3.0258	0,399	13,17%	2.2718	4,781	21,04%	3.3630	0,673	20,01%	18,07%
T5	8,0	5,0	4.0343	0,387	9,58%	3.4523	0,681	19,73%	3.3630	0,663	19,71%	16,34%
T6	8,0	5,5	4.0343	0,397	9,83%	3.4523	0,672	19,48%	3.3630	0,628	18,67%	15,99%
T7	8,5	3,0	4.0444	0,741	18,32%	4.1022	0,682	16,63%	4.0734	0,834	20,48%	18,48%
T8	8,5	3,5	4.0444	0,718	17,75%	4.1022	0,898	21,90%	4.0734	0,873	21,44%	20,36%
T9	8,5	4,0	4.0444	0,767	18,96%	4.1022	0,883	21,53%	4.0734	0,885	21,73%	20,74%
T10	8,5	4,5	4.0444	0,785	19,41%	4.1022	0,912	22,24%	4.0734	0,896	21,98%	21,21%
T11	8,5	5,0	5.3925	0,886	16,43%	5.4696	0,987	18,05%	5.4312	1,063	19,57%	18,02%
T12	8,5	5,5	5.3925	0,873	16,18%	5.4696	0,900	16,46%	5.4312	1,001	18,43%	17,02%
T13	9,0	3,0	3.4286	1,288	37,56%	3.4343	1,513	44,07%	4.3074	1,833	42,56%	41,40%
T14	9,0	3,5	3.4286	1,353	39,46%	3.4343	1,501	43,71%	4.3074	1,801	41,81%	41,66%
T15	9,0	4,0	3.4286	1,381	40,27%	3.4343	1,529	44,51%	4.3074	1,798	41,76%	42,18%
T16	9,0	4,5	3.4286	1,488	43,42%	3.4343	1,574	45,83%	4.3074	1,897	44,06%	44,44%
T17	9,0	5,0	4.5715	1,783	39,01%	3.4343	1,571	45,75%	4.3074	1,873	43,49%	42,75%
T18	9,0	5,5	4.5715	1,691	37,00%	3.4343	1,484	43,21%	4.3074	1,831	42,51%	40,91%
T19	9,5	3,0	3.9892	0,819	20,54%	3.4510	1,455	42,18%	3.5370	1,486	42,01%	34,91%
T20	9,5	3,5	3.9892	0,847	21,22%	3.4510	1,343	38,92%	3.5370	1,491	42,16%	34,10%
T21	9,5	4,0	3.9892	0,849	21,27%	3.4510	1,347	39,03%	3.5370	1,483	41,93%	34,08%
T22	9,5	4,5	3.9892	0,883	22,13%	2.2801	3,883	17,03%	3.5370	1,489	42,10%	27,09%
T23	9,5	5,0	3.9892	0,847	21,23%	3.4510	1,473	42,68%	3.5370	1,494	42,24%	35,38%
T24	9,5	5,5	2.6595	0,800	30,08%	3.4510	1,251	36,25%	3.5370	1,500	42,41%	36,25%
T25	10,0	3,0	3.2164	0,386	12,00%	3.5460	0,744	20,98%	3.4520	0,738	21,37%	18,12%
T26	10,0	3,5	3.2164	0,369	11,48%	3.5460	0,801	22,59%	3.4520	0,718	20,76%	18,28%
T27	10,0	4,0	3.2164	0,373	11,59%	3.5460	1,041	29,36%	3.4520	0,680	19,71%	20,22%
T28	10,0	4,5	3.2164	0,390	12,13%	3.5460	0,812	22,90%	3.4520	0,693	20,07%	18,37%
T29	10,0	5,0	4.2886	0,349	8,14%	3.5460	3,720	16,87%	3.4520	0,777	22,51%	15,84%
T30	10,0	5,5	4.2886	0,328	7,64%	3.5460	1,121	31,61%	3.4520	0,781	22,62%	20,62%
T31	10,5	3,0	3.3084	0,871	26,33%	3.4263	0,768	22,41%	3.3672	0,868	25,76%	24,84%
T32	10,5	3,5	3.3084	0,598	18,07%	3.4263	0,654	19,10%	3.3672	0,700	20,79%	19,32%
T33	10,5	4,0	3.3084	0,671	20,28%	3.4263	0,686	20,02%	3.3672	0,618	18,35%	19,55%
T34	10,5	4,5	3.3084	0,815	24,63%	3.4263	0,741	21,63%	3.3672	0,681	20,22%	22,16%
T35	10,5	5,0	4.4112	0,816	18,50%	4.5684	0,766	16,77%	4.4896	0,966	21,51%	18,93%
T36	10,5	5,5	4.4112	0,813	18,42%	4.5684	0,779	17,05%	4.4896	0,899	20,01%	18,49%

**ANEXO 8: ANOVA y LSD para rendimiento proteico de variedad rosada Junín**

**Pruebas de Múltiple Rangos para rendimiento por pH alcalino**

pH alcalino	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
8	18	0,170883	0,01451	X
10	18	0,185739	0,01451	X
8,5	18	0,19305	0,01451	X
10,5	18	0,205472	0,01451	X
9,5	18	0,336339	0,01451	X
9	18	0,422217	0,01451	X

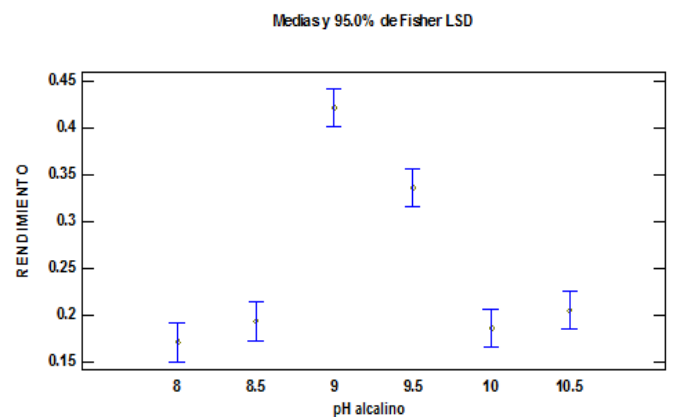
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
8 - 8.5		-0,0222	0,0409
8 - 9	*	-0,2513	0,0409
8 - 9.5	*	-0,1655	0,0409
8 - 10		-0,0149	0,0409
8 - 10.5		-0,0346	0,0409
8.5 - 9	*	-0,2292	0,0409
8.5 - 9.5	*	-0,1433	0,0409
8.5 - 10		0,0731	0,0409
8.5 - 10.5		-0,0124	0,0409
9 - 9.5	*	0,0859	0,0409
9 - 10	*	0,2365	0,0409
9 - 10.5	*	0,2167	0,0409
9.5 - 10	*	0,1506	0,0409
9.5 - 10.5	*	0,1309	0,0409
10 - 10.5		-0,0197	0,0409

\* indica una diferencia significativa.

**Pruebas de Múltiple Rangos para rendimiento por pH ácido**

pH ácido	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
5	18	0,2454	0,0145	X
5,5	18	0,2488	0,0145	X
3,5	18	0,2509	0,0145	X
4,5	18	0,2522	0,0145	X
3	18	0,2576	0,0145	X
4	18	0,2586	0,0145	X

\* indica una diferencia significativa.



**ANEXO 9: Resultados de aminoácido por triplicado de las muestras por HPLC**

AAE	A			B			C			D		
AC. ASPARTICO	0,05562	0,04996	0,04973	0,14045	0,15419	0,12592	0,05491	0,06202	0,05239	0,17450	0,25664	0,30353
AC. GLUTAMICO	0,07923	0,07246	0,07470	0,21448	0,23096	0,22219	0,10956	0,11977	0,11524	0,28980	0,46379	0,67911
SERINA	0,04113	0,05160	0,04254	0,11490	0,11858	0,11781	0,04760	0,05758	0,05378	0,14050	0,20128	0,23802
HISTIDINA	0,08959	0,08944	0,09415	0,18209	0,18494	0,24734	0,13151	0,15119	0,14689	0,25054	0,35626	0,44377
GLICINA	0,12910	0,12339	0,12644	0,30679	0,31553	0,32015	0,16336	0,18099	0,17490	0,38979	0,56880	0,70942
TREONINA	0,01966	0,01762	0,01885	0,05006	0,05155	0,05152	0,02197	0,02602	0,01595	0,06105	0,09184	0,11366
ARGININA	0,03660	0,02144	0,02265	0,06564	0,07763	0,07132	0,02739	0,02394	0,00993	0,22923	0,40372	0,66581
ALANINA	0,04958	0,04298	0,04391	0,12559	0,13063	0,13182	0,06397	0,04829	0,04138	0,08357	0,15504	0,19435
VALINA	0,01119	0,01663	0,01792	0,05706	0,06006	0,05773	0,02467	0,02818	0,01790	0,05431	0,10891	0,10337
METIONINA	0,01505	0,02535	0,02447	0,08487	0,08492	0,08550	0,03190	0,03349	0,01198	0,07500	0,14601	0,13854
FENILALANINA	0,03872	0,03077	0,03524	0,09790	0,10197	0,11371	0,03531	0,12650	0,10272	0,48538	0,61160	0,73240
ISOLEUCINA	0,01259	0,01738	0,01714	0,04684	0,04983	0,04524	0,01797	0,02025	0,02072	0,06010	0,09177	0,10909
LEUCINA	0,06296	0,05599	0,05663	0,20400	0,21103	0,20673	0,07548	0,09659	0,08307	0,25831	0,42938	0,52817
LISINA	0,12153	0,12684	0,12995	0,31035	0,32426	0,31385	0,14668	0,17668	0,16281	0,35619	0,56412	0,58765
PROLINA	0,00367	0,00525	0,00473	0,00830	0,00972	0,02391	0,00503	0,00442	0,00486	0,00992	0,01212	0,01426

Laboratorio Cromatografía UNSAAC

**ANEXO 10 : Propiedades tecnofuncionales para su uso en los alimentos**

**Capacidad de Retención de agua (CRA) para proteína de quinua blanca Junín**

pH	Muestra g	volumen H2O ml	densidad del agua a 25°C g/ml	Peso del precipitado g	Peso proteína g	CRA
3	1,02	10	0,963	3,5012	0,742	3,3027±0,30
4	1,01	10	0,963	3,4124	0,742	3,2202±0,19
5	1,01	10	0,963	3,1234	0,742	2,9201±0,33
6	1,02	10	0,963	3,5011	0,742	3,2898±0,22
9	1,02	10	0,963	3,7123	0,742	3,5187±0,08

**Capacidad de Retención de agua (CRA) para proteína de quinua rosada Junín**

pH	Muestra g	volumen H2O ml	densidad del agua a 25°C g/ml	Peso del precipitado g	Peso proteína g	CRA
3	1,00	10	0,963	3,6231	0,742	3,4944±0,39
4	1,00	10	0,963	3,3347	0,742	3,1949±0,30
5	1,00	10	0,963	2,7562	0,742	2,5942±0,25
6	1,00	10	0,963	3,1243	0,742	2,9764±0,09
9	1,00	10	0,963	3,9886	0,742	3,8739±0,19

**Capacidad de Emulsión (CE) para proteína de quinua blanca Junín**

Concentración	0,40%			0,60%		
pH	4	6	8	4	6	8
gasto de aceite (ml)	127	254	340	98	163	222

	pH		
blanco	4	6	8
gasto de aceite (ml)	6,5	4	3,5

concentración	0,40%			0,60%		
pH	4	6	8	4	6	8
CEE	120,5	250,0	336,5	91,5	159,0	218,5

Tratamiento	Concentración	pH	CEE
T1	0,40	4	120,5 ± 0,20
T2	0,40	6	250,0 ± 0,30
T3	0,40	8	336,5 ± 0,12
T4	0,60	4	91,5 ± 0,10
T5	0,60	6	159,0 ± 0,11
T6	0,60	8	218,5 ± 0,09

Capacidad de Emulsión (CE) para proteína de quinua rosada Junín

Concentración	0.40%			0.60%		
Ph	4	6	8	4	6	8
gasto de aceite (ml)	125	256	345	95	160	225

	pH		
blanco	4	6	8
gasto de aceite (ml)	7	4,5	3

Concentración	0.40%			0.60%		
pH	4	6	8	4	6	8
CEE	1,180	2,515	3,420	0,880	1,555	2,220
CEE	118	251,5	342	88	155,5	222

Tratamiento	Concentración	pH	CEE
T1	0,40	4	118 ± 0,02
T2	0,40	6	251,5 ± 0,29
T3	0,40	8	342 ± 0,38
T4	0,60	4	88 ± 0,10
T5	0,60	6	155,5 ± 0,059
T6	0,60	8	222 ± 0,21

Capacidad de Formación de Espuma (CFE) para proteína de quinua blanca Junín

TRATAMIENTO	% de APQ	PH	volumen inicial	espuma	tiempo 30seg	volumen de la espuma	%CFE
T1	0,8	4	33	34,5	33	1,5	4,5 ± 0,74
T2	0,8	6	33	48	40	15	45,5 ± 0,6
T3	0,8	8	31	49,6	45	18,6	60,0 ± 1,95
T4	0,6	4	36,5	37,5	37	1	2,7 ± 0,18
T5	0,6	6	31	39	46	8	25,8 ± 1,9
T6	0,6	8	34	51	37	17	50,0 ± 1,4
T7	0,4	4	36	37	37	1	2,8 ± 0,12
T8	0,4	6	37	44	52	7	18,9 ± 0,03
T9	0,4	8	35,5	48	47	12,5	35,2 ± 0,18

Capacidad de Formación de Espuma (CFE) para proteína de quinua rosada Junín

TRATAMIENTO	% de APQ	PH	volumen inicial	espuma	tiempo 30seg	volumen de la espuma	%CFE
T1	0,8	4	40	41,8	41,8	1,8	4,5 ± 0,4
T2	0,8	6	40	59,5	59,5	19,5	48,8 ± 1,1
T3	0,8	8	40	60	60	20	50,0 ± 1,2
T4	0,6	4	40	41,7	41,7	1,7	4,3 ± 0,2
T5	0,6	6	40	51,5	51,5	11,5	28,8 ± 0,8
T6	0,6	8	40	58	58	18	45,0 ± 1,0
T7	0,4	4	40	40,5	40,5	0,5	1,3 ± 0,2
T8	0,4	6	40	48	48	8	20,0 ± 1,1
T9	0,4	8	40	52,5	52,5	12,5	31,3 ± 1,2