

AISLADOS PROTEÍNICOS DE GRANOS ALTOANDINOS CHENOPODIACEAS; QUINUA “CHENOPODIUM QUINOA” – CAÑAHUA “CHENOPODIUM PALLIDICAULE” POR PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA

J. Carlos Callisaya A.¹, J. Antonio Alvarado K.¹

Química de alimentos, Instituto de Investigaciones Químicas, Universidad Mayor de San Andrés

Keywords: Quinoa, Canihua, Protein isolate, Protein solubility.

ABSTRACT

The quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) and the canihua (*Chenopodium Pallidicaule Aellen*), pseudocereals of the region of the Andes of South America, report an exceptional composition of amino acids. Considering these antecedents this study has the purpose of to isolate and to optimize the extraction effects and precipitation of the proteins in the point isoeléctrico in two quinoa varieties and canihua, respectively. The isolated proteic got ready by means of the extraction to pH 8,0 - 8,9 to protect the material proteic of the oxidation, an antioxidant was added in the extract watery sulphite of sodium 0,1% p/p and precipitation of the proteins to pH 4,5 at 5,3. The content of proteins is of 85,86; 83,60; 87,74; 82,68% for QIK, QST, CAK, CVT respectively with a humidity of 7,71; 8,11; 7,59; 8,10 for CVT, CAK, QIK and QST respectively, value relatively low that confer stability in the time. The solubility of the isolated proteic increases until the 45 °C and diminish above the 45 °C observed the denaturalization of the protein. The solubility of the proteins to pH 4,5 are smaller, being observed a higher solubility to pH different from the point isoelectric, what shows us that the method applied in the obtaining and optimization of the isolated quinoa proteic and canihua is adapted.

Corresponding author: jaalvki@gmail.com

INTRODUCCION

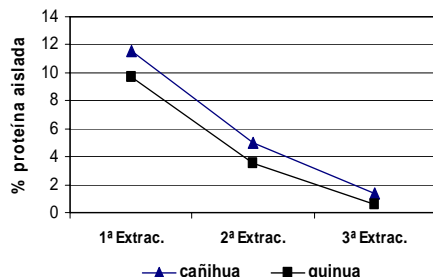
La quinua y cañihua pseudocereales de la región de los Andes de América del sur se clasifican dentro de la familia de las quenopodiáceas. Estos pseudocereales no pertenecer a la familia de las gramíneas pues estas carecen de gluten, pero a diferencia de estos son dicotiledóneas perteneciendo al género chenopodium. Estos pseudocereales tienen relativamente un contenido alto en proteínas 15,5 % quinua y 15,3 % cañihua y un contenido excepcional de aminoácidos¹. En base a estos índices, el contenido de proteínas para la quinua y cañihua son relativamente altos comparados con los cereales. Este hecho convierte a la proteína de estos pseudocereales en objetos muy atractivos desde el punto de vista nutricional, capaces de complementar proteínas de otras fuentes como cereales, leguminosas y oleaginosas. Las mismas que podían ser incluidas en la alimentación humana bajo la forma de harinas concentrados y/o aislados proteicos. Se sabe que existe una relación entre la estructura y las propiedades funcionales de una proteína y que la conformación proteica es afectada por el tratamiento térmico². Varios estudios han sido realizados especialmente para las oleaginosas como la soya, el tarwi, así como para el amaranto, en la búsqueda de mejorar y ampliar su uso como ingredientes funcionales, pero ningún estudio se ha realizado para la quinua y cañihua. Estudios enfocados a la mejoría de las propiedades funcionales de proteínas alimenticias requieren mayor destaque por parte de los investigadores, dado que, tales proteínas poseen una amplia aplicación tecnológica en la industria de alimentos; agregando a los productos características reológicas interesantes. Considerándose la importancia del desarrollo de nuevos productos para atender a la demanda del mercado de ingredientes, con aplicación en la formulación de alimentos, el presente trabajo buscó optimizar el proceso para aislar las proteínas de las quenopodiáceas quinua y cañihua por precipitación isoeléctrica a diferentes condiciones de pH de extracción y precipitación.

RESULTADOS, DISCUSION

Aislados proteicos

a) Determinación del número de extracciones

Por los resultados obtenidos en la segunda y tercera extracción (grafica 1), que muestran una disminución significativa de tipo exponencial en los porcentajes de proteína aislada, permiten concluir que bastan dos extracciones para aislar las proteínas con un buen rendimiento.

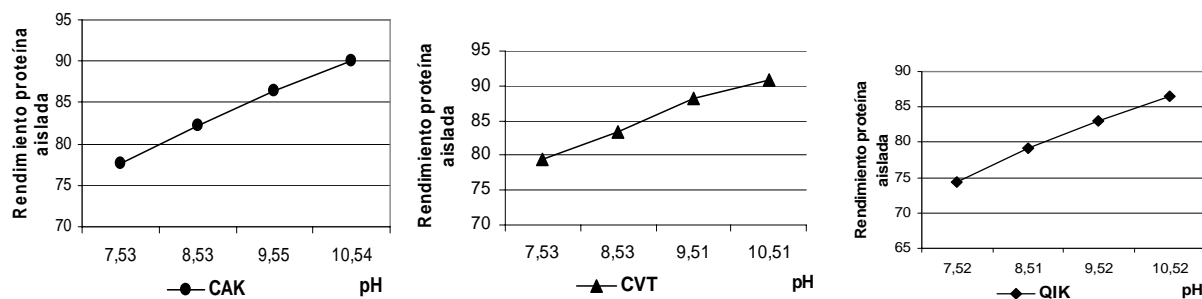


Gráfica 1: Número de extracciones de las quenopodiáceas andinas

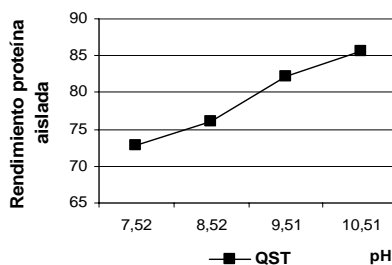
b) Solubilización de las proteínas en medio alcalino

Es de conocimiento que tratamientos alcalinos altos ($\text{pH} > 9$) afectan negativamente a los aminoácidos azufrados y a otros esenciales tales como *lisina* generando lisino-alanina; además de causar desnaturalización e hidrólisis de las proteínas, incremento de la reacción de Maillard con el oscurecimiento de las proteínas; e incremento de la extracción de componentes no proteicos, los cuales coprecipitan con las proteínas, bajando así la calidad del aislado proteico¹². Por estas razones técnicas se optó por trabajar en un rango de $\text{pH} 8,0 - 8,9$ que permite obtener una cantidad apreciable de proteína.

La **grafica 2** permite concluir que el rendimiento y la apariencia física de la proteína aislada depende del pH . La solubilidad de las proteínas es mayor a un pH , obteniendo un máximo relativo a 10,5.



a) CAK = Cañihua amarilla – Kallutaca b) CVT = Cañihua beige – Taraco c) QIK = Quinoa Intinaira – Kallutaca

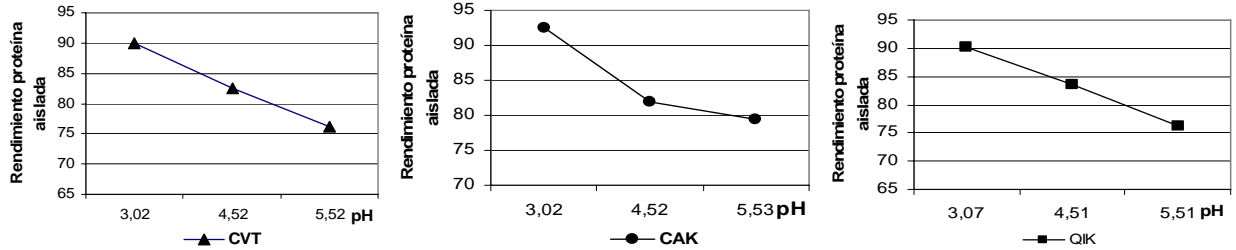


d) QST = Quinoa Surumi – Taraco

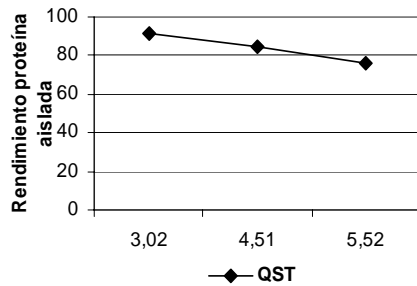
Gráfica 2: Rendimiento de las proteínas aisladas obtenidas por extracción a pH alcalino a), b), c) y d).

c) Precipitación en el entorno del pH isoelectrico

La **gráfica 3** permite concluir que en la región del pI, la variación del pH influye sobre la apariencia física de la proteína aislada. Se logró un rendimiento máximo por precipitación a pH 3,02. Sin embargo, a un pH por debajo de 4,0 la apariencia física de la proteína cambia considerablemente precipitando en forma de agregados o grumos. Por esta razón, se optó por trabajar en un rango de pH 4,5 – 5,3.



a) CVT = Cañihua beige – Taraco b) CAK = Cañihua Amarilla – Kallutaca c) QIK = Quinoa Intinaira – Kallutaca

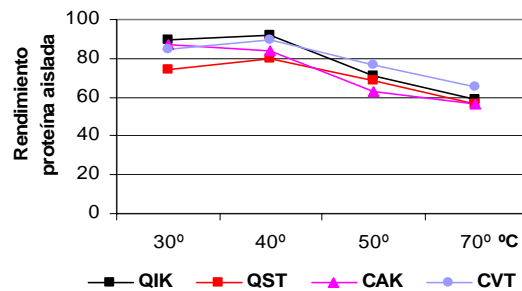


d) QST = Quinoa Surumi – Taraco

Gráfica 3: Rendimiento de proteína aislada en el entrono del pH isoelectrico. a); b); c) y d)

d) Estudio de la temperatura de solubilización

La influencia de la temperatura de solubilización se ilustra en la **gráfica 4**, la cual muestra que el rendimiento proteico es dependiente de la temperatura, obteniéndose rendimientos óptimos a 40 °C y rendimientos bajos a 70 °C. También nos muestran que el tratamiento térmico afecta las características fisicoquímicas de las proteínas, notándose cambios en las características físicas de las proteínas aisladas, pues a mayor temperatura se forman agregados o grumos.



QIK = Quinoa Intinaira – Kallutaca; QST = Quinoa Surumi – Taraco; CAK = Cañihua amarilla – Kallutaca; CVT = Cañihua beige – Taraco

Gráfica 4: Efecto de la temperatura de solubilización.

e) Efecto del tiempo de solubilización

El tiempo óptimo para la solubilización de las proteínas es de 60 minutos, lo que se nota por la cantidad del precipitado.

f) Pruebas de secado

➤ **Temperatura ambiente:** El aislado proteico sin antioxidante (sulfito de sodio), fue expuesto en forma directa a temperatura ambiente “bajo sombra”, durante 4 días. El producto obtenido tiene un aspecto sólido de masa de color oscuro lo cual supone una degradación oxidativa del material proteico. En tanto, que el aislado proteico con antioxidante (sulfito de sodio), expuesto a temperatura ambiente “bajo sombra”, por 4 días el producto seco de la proteína aislada muestra un aspecto sólido pero de una coloración más blanquecina, además de observar que tiene un poco de brillo.

Estas primeras pruebas de secado a temperatura ambiente presentaron bastantes dificultades pues a temperatura promedio de 18 y 20 °C los aislados eran propensos a desarrollar microorganismos (mohos), cuya incidencia se nota en el aspecto y en el olor de las proteínas. Al segundo día el olor y las características físicas de la proteína eran indeseables. Por ello concluimos que esta etapa (secado) es una de las más críticas, debido a la degradación térmica y oxidativa, así como a la acción microbiana que pueden presentar las proteínas.

➤ **Temperatura 18 – 20 °C:** El secado se realizó en una estufa eléctrica con convección de aire. La proteína aislada sin sulfito de sodio muestra un aspecto sólido de color oscuro, en tanto que el producto de la proteína aislada con sulfito de sodio presenta menor oscurecimiento, pero se observa una solidificación del material.

➤ **Temperatura 30 – 35 °C:** Esta prueba se realizó en una estufa eléctrica con convección de aire por 13 horas, donde se observa que el producto de la proteína sin sulfito de sodio, presenta menor oscurecimiento y menor solidificación, en tanto que para el producto con sulfito de sodio, el producto obtenido presenta una coloración de amarilla a blanca, además de presentar una solidificación menor, lo que permite inferir una menor degradación térmica y oxidativa de las proteínas aisladas.

De las tres pruebas realizadas nos permite optar por un rango de temperatura entre 30 y 35 °C (tercera prueba), el cual se aplicó a todos los aislados proteicos obtenidos ulteriormente.

Condición óptima para aislar proteínas

La temperatura, el pH de extracción, el pH de precipitación así como el tiempo, nos permitieron obtener datos importantes, los cuales nos dan las condiciones más favorables para aislar las proteínas a partir de harina desgrasada de granos de quinua y cañihua, los resultados obtenidos se resumen en:

➤ La solubilización alcalina con adición de sulfito de sodio 0,1 % (p/p) entre un rango de pH 8,0 – 8,9; durante 60 minutos a temperatura ambiente y agitación continua.

➤ El número de extracciones aconsejable es de dos extracciones.

➤ Precipitación ácida en un rango de pH 4,5 - 5,3; con un tiempo de reposo de 15 a 20 minutos a temperatura ambiente.

➤ Centrifugación a 5500 rpm por 30 minutos y 4 °C¹².

➤ Secado en estufa a una temperatura de 30 - 35°C con un tiempo de secado de 13 horas.

La estimación del porcentaje de rendimiento optimizado para quinua y cañihua obtenido nos da los siguientes resultados: para los granos molidos de quinua QIK 85,9%; QST 83,6%; y para los granos molidos de cañihua CAK 87,7% y CVT 82,5% de los resultados, se observa que hay una correlación en los valores obtenidos, además, de haberse aislado un buen porcentaje de las proteínas (gráfica 5).



¡Error! Vínculo no válido.

Grafica 5: Rendimiento proteína aislada

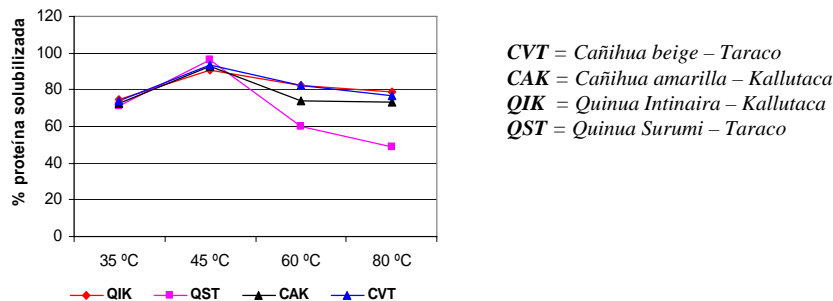
Fig. 1: precipitado proteico de la quinua y cañihua

Evaluación de la solubilidad de los aislados proteicos

La evaluación de la solubilidad de las proteínas aisladas de la quinua y cañihua, realizado frente a las condiciones de temperatura y pH, se observa que el comportamiento bajo estas condiciones es óptimo y que de acuerdo a los resultados las proteínas aisladas tienen buenas propiedades funcionales.

a) Solubilidad en función de la temperatura

Los resultados en la gráfica 6 nos muestran que la solubilidad de los aislados proteicos aumentan entre las temperaturas de 35 a 45 °C, pero, a temperaturas superiores a 45 °C la solubilidad disminuye, además de observarse la desnaturalización de la proteína.

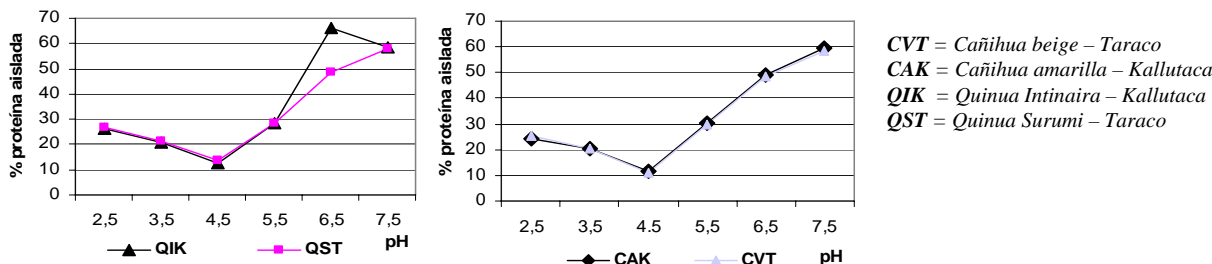


Gráfica 6: Porcentaje de proteína solubilizada a diferentes temperaturas

b) Solubilidad en función del pH

La solubilidad de las proteínas aisladas en función del pH (gráfica 7) muestra, que a pH de 2,5 y 3,5 la solubilidad es moderada, así como a pH 5,5; 6,5 y 7,5 donde la solubilidad de las proteínas es mucho mayor. La solubilidad de las proteínas a pH 4,5 es mínima comparada con los extremos de pH.

Por lo tanto, de los resultados obtenidos en el estudio de la solubilidad de las proteínas aisladas en función de la temperatura y del pH, se llega a la conclusión de que el método aplicado en la obtención de los aislados proteicos de quinua y cañihua es adecuado.



Gráfica 7: Solubilidad de los aislados proteicos en función del pH

Análisis proximal de los granos molidos y aislados proteicos de quinua y cañihua

El análisis proximal de las muestras de quinua y cañihua (Tabla 1) nos muestran que los porcentajes de proteína para las distintas 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 el 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 s.n.m., características fenológicas de la variedad, condiciones de HR del ambiente, contenido de sales y pH de los suelos, etc., factores que no entran dentro de los objetivos del presente estudio.

	Quinua (QIK)	Quinua (QST)	Cañihua (CAK)	Cañihua (CVT)
Humedad %	12,42	10,57	12,13	12,45
Cenizas %	2,89	3,17	3,75	4,43
Proteínas % (Nx6,25)	12,75	13,17	14,68	13,45
Materia grasa %	6,35	4,98	6,67	5,55
* Carbohidratos %	65,59	68,01	62,77	64,12

Tabla 1. Resultados del análisis proximal de las quenopodiáceas andinas quinua y cañihua según la Norma Boliviana para Cereales – Quinua en grano método de ensayo

CVT = Cañihua beige – Taraco
 CAK = Cañihua amarilla – Kallutaca
 QIK = Quinua Intinaira – Kallutaca
 QST = Quinua Surumi – Taraco

Los resultados del análisis proximal de los aislados se dan en la **Tabla 2**. El contenido de proteínas en los aislados resultó en todos los casos superior al 80%.

Parámetro	CVT	CAK	QIK	QST
Humedad (%)	7,71	8,11	7,59	8,10
Cenizas (%)	2,83	1,14	1,27	1,56
Proteína (%) (Nx6,25)*	82,35	86,92	85,22	83,44

Tabla 2. Análisis proximal de los aislados proteico. * Promedio por triplicado (expresado en base seca)

CVT = Cañihua beige – Taraco
 CAK = Cañihua amarilla – Kallutaca
 QIK = Quinoa Intinaira – Kallutaca
 QST = Quinoa Surumi – Taraco

CONCLUSIONES

De los resultados del presente estudio se concluye que:

El análisis proximal de los granos molidos de quinua y cañihua (Tabla 4), muestran que el porcentaje de proteínas de los granos molidos de quinua y cañihua se encuentran dentro el rango bibliográfico. La Tabla 6 muestra el análisis proximal de los aislados proteicos de la quinua y cañihua, apreciándose contenidos altos del porcentaje de proteínas. De los resultados del pH de extracción graficas 2 a, b, c y d) se observa que a pH 10,5 se obtuvo el máximo rendimiento y a pH 7,5 el mínimo rendimiento, lo que nos da a entender que el rendimiento aumenta con el pH creciente.

De los resultados en el grafico 3 a, b, c y d, el pH isoelectrico tiene un efecto moderado en el rendimiento del producto y un efecto mayor en su apariencia física. Obteniéndose aislados proteicos con buena apariencia física en un rango de pH 4,5 a 5,3. A pH por debajo de 4,0 la proteína precipita como cuajo, lo cual influye bastante en el aspecto físico.

El efecto de la temperatura (grafica 4) nos muestra que el rendimiento es dependiente de la temperatura, obteniéndose rendimientos óptimos a 40 °C y rendimientos bajos a 70 °C. También nos muestran que el tratamiento térmico afecta las características fisicoquímicas de las proteínas, notándose cambios en las características físicas de las proteínas aisladas, pues a mayor temperatura se forman agregados o grumos, comparando la extracción a temperatura ambiente la diferencia de rendimiento es mínima, por lo tanto, la temperatura adecuada de extracción es a temperatura ambiente.

Por tanto la mejor condición para aislar las proteínas de quinua y cañihua es:

- El pH de extracción (alcalino) con adición de sulfito de sodio 0,1 % (p/p) óptima por cantidad y calidad está en el rango de pH 8,0 a 8,9
- El tiempo de extracción óptimo es de 60 minutos con agitación continua
- La temperatura de extracción óptima, temperatura ambiente
- El pH isoelectrico óptimo por cantidad y calidad (pH ácido) está en el rango de 4,5 a 5,3
- El secado de las proteínas óptimo es de 30 - 35°C por un tiempo de 13 horas.
- La mejor estimación del rendimiento obtenido para la quinua QIK 85,9; QST 83,6; CAK 87,7 y CVT 82,5 % de los resultados, se observa que hay una correlación en los valores obtenidos, además, de haberse aislado un buen porcentaje de las proteínas.

La solubilidad de las proteínas aisladas en función de la temperatura (grafica 6) aumenta en el rango de temperatura de 35 a 45 °C, la solubilidad de las proteínas a temperaturas mayores es menor, además de observarse la desnaturalización de la proteína. La solubilidad de las proteínas aisladas en función del pH (gráfica 7) muestra que a un pH de 4,5 la solubilidad es mínima, observándose además que a pH deferente del punto isoelectrico hay un aumento significativo de la solubilidad de las proteínas aisladas.

De los resultados obtenidos en el estudio de la solubilidad de las proteínas aisladas se debe considerar que mientras menos solubles sean más desnaturalizados serán los aislados proteicos, por esta razón es importante considerar el método de obtención de las proteínas, puesto que si éste implica un daño intenso, dichas propiedades se modifican notoriamente por lo cual el método aplicado en este estudio para aislar las proteínas de quinua y cañihua es adecuado por los resultados obtenidos de la solubilidad de los aislados proteicos. Por lo tanto el estudio realizado a los aislados proteicos de quinua y cañihua poseen características nutricionales y funcionales excepcionales aptas para su utilización en la industria, por lo tanto se requiere estudios que permitan su utilización y el desarrollo de productos que incorporen aislados proteicos de quinua y cañihua.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS

Materia prima

Harina desgrasada de quinua y cañihua de dos cultivos experimentales de la comunidad Chambi (2da sección municipio de taraco) provincia Ingavi y la comunidad de Kallutaca (2da sección municipio de Laja) provincia Los Andes del departamento de La Paz.

Preparación de las muestras

Las semillas de quinua y cañihua son molidos en un mortero de ágata. Las semillas molidas son desgrasadas usando éter de petróleo 20 – 40 en un equipo soxklet según al Norma Boliviana (NB 665).

Obtención de aislados proteicos

La obtención de aislados proteicos de quinua y cañihua se realizó siguiendo la metodología descrita por Medrano R. (1990)^{3,4,5,6,7} optimizándose así las condiciones para los pseudocereales estudiados.

Pruebas de optimización

a) Determinación del número de extracciones

Se suspende harina desengrasada de quinua y cañihua en agua destilada (10 % p/v), agregamos sulfito de sodio 0,1 % p/p⁶ y ajustamos a pH 9 con NaOH 1N y 0,5N para solubilizar las proteínas, agitar la suspensión por 60 minutos a temperatura ambiente y filtrar, el residuo sólido obtenido es resuspendida nuevamente en agua destilada (con la mitad del volumen inicial de la primera extracción) y ajustado a pH 9 con NaOH 1N y 0,5N, el cual es agitado por 60 minutos a temperatura ambiente y posteriormente filtrado, obteniéndose así la segunda extracción. El residuo obtenido de la segunda extracción es tratada como en la primera extracción, obteniéndose así la tercera extracción. Cada sobrenadante obtenido por separado en la primera, segunda y tercera extracción es ajustado a pH 4,5 con H₃PO₄ al 10 % para precipitar las proteínas⁶, luego procedemos a separar con un kitasato las proteínas precipitadas, seguidamente lavamos las proteínas aisladas con agua destilada, y procedemos a secar a una temperatura de 20 °C en estufa, para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría.

b) Solubilización de las proteínas en medio alcalino

La harina desgrasada es suspendida en agua destilada (10 % p/v), agregar sulfito de sodio (0,1 % p/p)⁶ y ajustar a pH alcalino de 7,5; 8,5; 9,5 y 10,5 con NaOH 1N y 0,5N para solubilizar las proteínas^{2,6}, agitar la suspensión por 60 min a temperatura ambiente. Centrifugar a 5500 rpm por 30 minutos a 4 °C, la parte sólida es nuevamente resuspendida en agua destilada (con la mitad del volumen inicial de la 1ra extracción) y alcalinizada a los pH correspondientes con NaOH 1 y 0,1 N procediéndose a la segunda extracción alcalina del material de partida. Cada sobrenadante obtenido (primera y segunda extracción) es ajustado a pH 4,5 con H₃PO₄ al 10 % para precipitar las proteínas⁶, centrifugar a 5500 rpm por 30 min a 4 °C, lavar las proteínas aisladas con agua destilada, centrifugar (condiciones anteriores) y secar a 20 °C en estufa, para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría.

c) Precipitación en el entorno del pH isoelectrico

Suspender la harina desgrasada en agua destilada (10 % p/v), agregar sulfito de sodio (0,1 % p/p)⁶ y ajustar a pH alcalino de 8,0 a 8,9 con NaOH 1N y 0,5N para solubilizar las proteínas, agitar la suspensión por 60 min (agitador magnético) a temperatura ambiente, centrifugar a 5500 rpm por 30 minutos a 4 °C, resuspender el residuo sólido en agua destilada (con la mitad del volumen inicial de la 1ra extracción) y alcalinizar a pH 8,0 a 8,9 con NaOH 1 y 0,1N procediéndose a la segunda extracción alcalina del material de partida. Ajustar el pH del sobrenadante a pH 3,0; 4,5 y 5,5 para precipitar las proteínas, con solución de H₃PO₄ al 10%^{2,6}, centrifugar a 5500 rpm por 30 min a 4 °C, lavar las proteínas aisladas con agua destilada, centrifugar y secar a 20 °C en estufa, para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría.

d) Estudio de la temperatura de solubilización

Para evaluar la condición más adecuada para aislar las proteínas en función de la temperatura⁶, se efectuaron pruebas como sigue: Se suspende harina desgrasada (10 % p/v) ajustando a pH alcalino 8,5 con NaOH 1N y 0,5N (solubilización de las proteínas), agregar sulfito de sodio (0,1 % p/p)⁶ y ajustar la temperatura a 30, 40, 50 y 70 °C a cada extracto alcalinizado, agitar la suspensión por 60 min y centrifugar a 5500 rpm por 30 minutos a 4 °C ajustar el pH del sobrenadante a 4,5 para precipitar las proteínas con solución de H₃PO₄ al 10%⁶, centrifugar a 5500 rpm por 30 min a 4 °C, proceder a lavar las proteínas aisladas con agua destilada y secar a 20 °C en estufa, para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría.

e) Efecto del tiempo de solubilización

Para evaluar el tiempo de extracción, se tomaron dos tiempos de 30 y 60 minutos: donde las suspensiones de harina desgrasada (10 % p/v) son ajustados a pH alcalino de 8,5 con NaOH 1N y 0,5N (solubilización de las proteínas). Las suspensiones son agitadas por 30 y 60 min (extracción) a temperatura ambiente, posteriormente la solución es separada por centrifugación a 5500 rpm por 30 minutos a 4 °C.

El sobrenadante obtenido es ajustado a pH 4,5 para precipitar las proteínas, con solución de ácido fosfórico al 10%, centrifugar a 5500 rpm por 30 min a 4 °C, lavar las proteínas aisladas con agua destilada y secar a 20 °C en estufa.

f) Pruebas de secado

El secado de las proteínas aisladas, es una de las etapas más críticas, debido a la degradación térmica y oxidativa que pueden sufrir las proteínas, lo que posteriormente determina sus propiedades físico-químicas y funcionales. Para ello se realizaron tres pruebas de secado a diferentes temperaturas en las siguientes condiciones: secado de las proteínas adicionadas con antioxidante y secado de las proteínas sin antioxidante

❖ *Secado a temperatura ambiente:* En esta prueba, las proteínas aisladas son expuestas en forma directa a temperatura ambiente “bajo sombra” 18 a 20 °C.

❖ *Secado a temperatura de 18 – 20 °C:* El secado a esta temperatura se realizó en una estufa eléctrica en un rango de temperatura de 18 a 20 °C.

❖ *Secado a temperatura de 30 – 35 °C:* Esta prueba se realizó en una estufa eléctrica en un rango de temperatura de 30 a 35 °C.

Evaluación de la solubilidad de los aislados proteicos

Las propiedades funcionales de los aislados proteicos son las que permiten definir su utilización como aditivos en sistemas alimenticios, principalmente la solubilidad, razón por la cual, se procedió a evaluar esta propiedad en los aislados proteicos obtenidos, bajo las siguientes condiciones:

- a) Solubilidad en función de la temperatura
- b) Solubilidad en función del pH

a) Solubilidad en función de la temperatura

Para evaluar este parámetro, se efectuó cuatro pruebas a distintas temperaturas⁸ (35, 45, 60 y 80 °C). Procediéndose a realizar dos ensayos para cada temperatura, para ello se pesó aproximadamente 0,5 gramos de cada aislado proteico obtenido, llevándolo a un volumen de 20 mL con agua destilada. Luego se sometió a la temperatura de prueba, en un equipo de baño María durante 20 minutos con agitación, después del tiempo transcurrido se procedió a reposarlo durante 20 minutos, para luego separarlo por centrifugación y posteriormente secarlo en una estufa a 30 - 35 °C y evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría..

a) Solubilidad en función del pH

Para evaluar este parámetro^{4,9}, se procedió a efectuar seis pruebas a distintos pH (2,5; 3,5; 4,5; 5,5; 6,5 y 7,5). Para lo cual se pesó aproximadamente 0,5 gramos de cada aislado proteico, llevándolo a un volumen de 20 mL con agua destilada. Luego se ajustó el pH del medio al valor del pH de prueba con soluciones diluidas de ácido fosfórico e hidróxido de sodio procurando no variar significativamente el volumen total. Después de ajustar el pH de prueba, se agitó durante 30 min. Transcurrido el tiempo se procedió a reposarlo durante 20 minutos, para luego separarlo por centrifugación, y realizar el lavado correspondiente con agua destilada para nuevamente centrifugarlo y luego secarlo en una estufa a 30 – 35 °C y evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría..

Condición óptima para obtener aislados proteicos

Las proteínas de la quinua y cañihua son solubilizadas preparando suspensiones de harina desgrasada con agua destilada (10% p/v), la suspensión es ajustado a un pH de 8,0 a 8,9 con NaOH 1N y 0,1N para proteger las proteínas del daño oxidativo se agrega un antioxidante (sulfito de sodio 0,1 % p/p) las suspensiones son agitadas por 60 minutos a temperatura ambiente, seguidamente es centrifugado a 5000 rpm por 20 minutos a 4 °C. Los sobrenadantes son ajustados con ácido fosfórico al 10 % para precipitar las proteínas a pH 4,3 a 5,3. Los precipitados son separados por centrifugación a 5000 rpm por 20 minutos a 4 °C las proteínas precipitadas son neutralizadas con agua destilada (50, 25, 25 mL) y secadas en una estufa a 30 °C por 13 horas y guardadas en envases (frascos ámbar) en un lugar libre de humedad y oscuro. (para otros tratamientos).

Análisis proximal de los granos molidos y aislados proteicos de quinua y cañihua

El análisis proximal es determinado por procedimientos según la norma Boliviana NB 662, NB 664, NB 665, NB 666, NB 668.

RECONOCIMIENTOS

Un agradecimiento al Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ) UMSA Facultad e Ciencias Puras y Naturales. Asimismo a la Agencia Sueca para el Desarrollo Internacional (ASDI-SAREC) por su colaboración.

REFERENCIAS

1. Gross, R.; Koch, F.; Malaga, I; Miranda, F.A.; Schoeneberg, H.; Trugo, I., C. Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources. *Food Chem.* 1989, 34, 25 – 34.
2. Martinez, E. N., Añon, M. C. 1996 Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2523 – 2530.
3. M. Wang, N. S. Hettiarachchy, M. Qi, W. Burks, and T. Siebenmorgen. 1999, Preparation and Functional Properties of Rice Bran Protein Isolate, *J. Agric. Food Chem.* 47, 411 – 416.
4. Salvador Badui Dergal “Química de los alimentos” p.568
5. Dennis D. Miller, 2001. Química de Alimentos – Manual de Laboratorio
6. Shemer Michael, 1980. Process for preparing a heat coagulable viscous protein United States Patent [4,188,399](#).
7. Medrano R., 1990. Obtención de principios nutricionales y terapéuticos de la semilla de tarwi, Facultad de ciencias y Tecnología UMSS, Cochabamba-Bolivia. P. 34-37.
8. Avanza, M. V., Añon, M. C., Modificaciones de las proteínas de amaranto por tratamiento térmico, Universidad Nacional del Nordeste / Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2004, Resumen.
9. Torres V. “bioquímica de los Alimentos”, 1987 (pp. 109-133).