



Esta obra está bajo una [Licencia  
Creative Commons Atribución-  
NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú.](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/)

Vea una copia de esta licencia en  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Optimización del proceso y caracterización físico química de aislado proteico  
de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial**

**AUTOR:**

Gabriela del Pilar Aliaga Flores

**ASESOR:**

Ing. Ángel Chávez Salazar

**CO – ASESOR**

Ing. Richer Garay Montes

**Tarapoto - Perú**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Optimización del proceso y caracterización físico química de aislado proteico  
de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)**

**AUTOR:**

**Gabriela del Pilar Aliaga Flores**

**Sustentada y aprobada el día 30 de abril del 2019, ante el honorable jurado:**

.....  
**Dr. Oscar Wilfredo Mendieta Taboada**

**Presidente**

.....  
**Ing. M. Sc. Epifanio Efraín Martínez Mena**

**Secretario**

.....  
**Ing. Enrique Terleira García**

**Miembro**

.....  
**Ing. Ángel Chávez Salazar**

**Asesor**

## Declaratoria de Autenticidad

**Gabriela del Pilar Aliaga Flores**, con DNI N° 72694130, egresada de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto, con la tesis titulada: Optimización del proceso y caracterización físico química de aislado proteico de frijol de palo (*Cajanus cajan L.*)

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se construirán en aportes a la realidad investigativa.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio, (al presentar otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto.

Tarapoto, 30 de abril de 2019

  
.....  
Gabriela del Pilar Aliaga Flores  
DNI. 72694130



**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres:	Aliaga Flores Gabriela del Pilar	
Código de alumno :	122101	Teléfono: 954930158
Correo electrónico :	gabrielalaga21@gmail.com DNI: 72694130	

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de:	Ingeniería Agroindustrial
Escuela Profesional de:	Ingeniería Agroindustrial

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	( )
Trabajo de suficiencia profesional	( )		

**4. Datos del Trabajo de investigación**

Título:	Optimización del proceso y caracterización fisicoquímica de aislado proteico de frijol de palo (Cajanus cajan L.)
Año de publicación:	2019

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	(X)	Embargo	( )
Acceso restringido **	( )		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

--

**6. Originalidad del archivo digital.**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

### 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI **“Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA”**.

  
.....  
Firma del Autor

### 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

19 / 06 / 2019



.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM – T.

\* **Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

\*\* **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **Dedicatoria**

A Dios por guiarme en cada paso tomado en mi vida, por tantas bendiciones juntas y por brindarme salud y bienestar.

A mis padres Gilberto y Martha con mucho amor, va dedicado todo mi cariño y esfuerzo entregado para la realización de este trabajo de investigación.

**Gabriela Aliaga.**

## **Agradecimiento**

- ✓ A mi asesor, el Ing. Ángel Chávez Salazar por haberme compartido sus conocimientos y brindarme su paciencia e instrucción durante todo el desarrollo de la presente tesis.
  
- ✓ Al ingeniero Richer Garay Montes, por su apoyo y asesoramiento en el laboratorio de investigación, de igual manera al señor Guido Saavedra Vela, técnico del laboratorio de TEPANAL, por todo su apoyo brindado.
  
- ✓ Al ingeniero Jairo Iván Gonzalez Linares por todo el apoyo brindado para poder culminar con este trabajo.
  
- ✓ A la Dr. Mari Luz Medina Vivanco, por mostrarse tan servicial y siempre dispuesta a ayudar.
  
- ✓ A la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto por haberme brindado la oportunidad de estudiar en sus aulas y a cada uno de los docentes de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial por compartirme sus conocimientos y el incentivo necesario para seguir adelante.
  
- ✓ A los miembros del jurado por cada una de sus observaciones y correcciones planteadas.
  
- ✓ Y a todos aquellos que directa o indirectamente fueron parte de este proceso, a cada uno de ellos muchas gracias.



## Índice general

Introducción.....	1
CAPÍTULO I.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. Generalidades.....	3
1.2. Origen y distribución .....	3
1.3. Descripción botánica.....	3
1.3.1. Tallo.....	4
1.3.2. Raíz.....	4
1.3.3. Flores .....	4
1.3.4. Fruto .....	5
1.4. Clasificación taxonómica.....	6
1.5. Fisiología y agroecología del cultivo del frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) .....	6
1.6. Contenido nutricional .....	7
1.7. Usos del frijol de palo .....	8
1.7.1. Alimentación Humana .....	8
1.7.2. Alimentación Animal .....	9
1.7.3. Potencial como Planta Forrajera.....	9
1.7.4. Usos Medicinales.....	10
1.8. Proteína .....	10
1.9. Estructura de las proteínas .....	10
1.9.1. Estructura primaria .....	10
1.9.2. Estructura secundaria.....	11
1.9.3. Estructura terciaria.....	12
1.9.4. Estructura cuaternaria .....	12
1.10. Aminoácidos .....	13
1.11. Del gen a la proteína .....	13
1.12. Fuentes de proteína .....	14
1.13. Proteínas Vegetales.....	14
1.14. Proteínas de leguminosas.....	15
1.15. Desnaturalización de proteínas .....	16
1.15.1. Termodinámica de la desnaturalización.....	16
1.15.2. Desnaturalización por cambios de temperatura .....	17
1.15.3. Desnaturalización por cambios de pH .....	17
1.16. Propiedades funcionales de las proteínas.....	18

1.16.1. Solubilidad .....	18
1.17. Aislado proteico .....	26
1.18. Score Proteico .....	26
CAPÍTULO II.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
2.1. Lugar de ejecución.....	27
2.2. Materiales y equipos .....	28
2.2.1. Equipos .....	28
2.2.2. Materiales de laboratorio .....	28
2.2.3. Reactivos .....	28
2.3. Desarrollo experimental.....	29
2.3.1. Análisis químico proximal del grano del frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.)..	29
2.3.2. Metodología experimental .....	30
2.3.3. Descripción del proceso.....	31
2.3.4. Análisis químico proximal del aislado proteico obtenido .....	32
2.3.5. Análisis de las propiedades funcionales aislado proteico obtenido.....	32
2.3.6. Análisis del contenido de aminoácidos la proteína aislada de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.).....	33
2.4. Diseño Experimental y Análisis de datos .....	34
CAPITULO III .....	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	35
3.1. Análisis químicos proximales.....	35
3.2. Análisis de las Propiedades Funcionales .....	36
3.3. Optimización de los procesos .....	37
3.4. Contenido de aminoácidos y score proteico .....	42
CONCLUSIONES.....	44
RECOMENDACIONES .....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
ANEXOS.....	53

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición nutricional del frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) y la soya ( <i>Glycine max</i> ).....	7
<b>Tabla 2.</b> Composición química y nutricional de semillas crudas de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.).....	8
<b>Tabla 3.</b> Diseño estadístico .....	34
<b>Tabla 4.</b> Análisis químico proximal del grano de frijol de palo ( <i>Cajanus Cajan</i> L.).....	35
<b>Tabla 5.</b> Análisis químico proximal del aislado proteico obtenido .....	36
<b>Tabla 6.</b> Propiedades funcionales del aislado proteico obtenido .....	37
<b>Tabla 7.</b> Perfil de aminoácidos del aislado proteico de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) ..	43

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Flores del frijol de palo .....	5
<b>Figura 2.</b> Fruto del frijol de palo .....	5
<b>Figura 3.</b> Estructura primaria de la proteína .....	11
<b>Figura 4.</b> Hélice $\alpha$ de la estructura secundaria de las proteínas.....	11
<b>Figura 5.</b> Estructuras terciarias de la faseolina (a) y la b-lactoglobulina (b). Las flechas representan las placas $\beta$ , y los cilindros $\alpha$ a las $\alpha$ -hélices.....	12
<b>Figura 6.</b> Esquema de la desnaturalización típica de una proteína donde Y representa una actividad hipotética o propiedad de la proteína, o bien, la concentración de la forma nativa de la proteína [N]. K 5 Constante de equilibrio y Tm 5 temperatura de “melting”.....	17
<b>Figura 7.</b> Perfiles de solubilidad respecto del pH para glicinina después de incubaciones a 0.6 mg/mL por 16 h a 20°C.....	20
<b>Figura 8.</b> Representación esquemática del papel de los parches hidrofóbicos en la superficie de las proteínas sobre la probabilidad de adsorción de las moléculas en la interfase aire-agua.....	22
<b>Figura 9.</b> Obtención de aislado proteico.....	30
<b>Figura 10.</b> Influencia del pH y el tiempo (min) en el rendimiento (%) de la extracción de proteínas de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) .....	38
<b>Figura 11.</b> Influencia del tiempo (min) y la relación soluto/solvente en el rendimiento de la extracción de proteínas de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.).....	39
<b>Figura 12.</b> Influencia del pH y la relación soluto/solvente en el rendimiento de la extracción de proteínas de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) .....	40
<b>Figura 13.</b> Grafica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) vs pH, tiempo (min).....	41
<b>Figura 14.</b> Grafica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) vs tiempo (min), relación soluto/solvente.....	41
<b>Figura 15.</b> Grafica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo ( <i>Cajanus cajan</i> L.) vs relación soluto/solvente, pH.....	42

## Resumen

Las proteínas son uno de los compuestos más importantes en la dieta de una persona, y en productos vegetales es importante conocer su composición, propiedades y la calidad de proteína que posee y los usos que se le pueda dar. El objetivo del presente trabajo fue obtener un aislado proteico optimizando los factores para su extracción, su caracterización proximal y determinación de aminoácidos para evaluar su calidad. El método de extracción se obtuvo mediante precipitación isoelectrica a un pH de 4.5 y variando los factores de tiempo (10, 20 y 30 min), relación soluto/solvente (3/1, 5/1 y 7/1) y pH (9, 10 y 11) en la alcalinización. Los resultados de la extracción del aislado proteico arrojaron que los factores óptimos para obtener un mayor rendimiento fue con los valores de 10 minutos, pH 11, y relación soluto/solvente de 7/1, datos que concuerdan con los valores que reporta Pretel (2014) que indica que se obtiene mayor rendimiento a valores elevados de pH. El aislado proteico presentó un total de 67% de proteína. El perfil de aminoácidos dio como resultado que el aislado proteico presenta como aminoácido limitante al grupo de azufrados (Metionina + cisteína) y la digestibilidad corregida por el score proteico presenta un valor de 12.3%

Palabras Clave: Precipitación isoelectrica, pH, extracción, rendimiento, score proteico.

## Abstract

Proteins are one of the most important compounds in people diet, and in plant products it is important to know their composition, properties and the quality of protein they have and the uses that can be given. The objective of the following work was to obtain a protein isolate optimizing the factors for its extraction, its proximal characterization and determination of amino acids to evaluate its quality. The extraction method was obtained by isoelectric precipitation at a pH of 4.5 and varying the time factors (10, 20 and 30 min), solute / solvent ratio (3/1, 5/1 and 7/1) and pH (9, 10 and 11) in the alkalization.

The results of the extraction of the protein isolate showed that the optimal factors to obtain a higher yield were the values of 10 minutes, pH 11, and solute / solvent ratio of 7/1, data that agree with the values reported by Pretel (2014) which indicates that a higher yield is obtained at high pH values. The protein isolate presented a total of 67% protein. The amino acid profile showed that the protein isolate has the limiting amino acid group sulfur (Methionine + cysteine) and the digestibility corrected by protein score a value of 12.3%.

Keywords: Isoelectric precipitation, pH, extraction, yield, protein score



## Introducción

El frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) es una de las leguminosas más consumidas en la selva peruana, además de ser cultivada también en otros países como Colombia, Costa Rica, Ecuador, Venezuela, etc.

Es una leguminosa que puede ser cultivada tanto de forma anual como perenne, por su alto contenido proteico este cultivo tiene una gran importancia social, económica y ambiental para el Perú, porque en su cultivo intervienen miles de agricultores y obreros de las zonas rurales y urbanas de la población de más bajos ingresos; es una fuente de proteína vegetal de buena calidad y barata para el consumidor (Cedano, 2006).

El frijol de palo (*Cajanus cajan* L) es una planta leguminosa con muchas utilidades; además es una alternativa alimenticia, contiene un alto porcentaje de proteína (22-23 %) el cual se adapta fácilmente y su costo de producción es bajo (Arias et al., 2010).

El frijol de palo es una leguminosa que ocupa un importante lugar en la dieta de muchas personas en Asia, África y Sur América, tiene baja concentración de grasa, moderada cantidad de fibra, buena cantidad de proteína, almidones y un razonable balance de los minerales esenciales de toda dieta (Torres et al., 2006) es también una fuente rica en carbohidratos, minerales y vitaminas (Jayadeep et al., 2009).

En la actualidad, aun se siguen presentado situaciones de desnutrición en muchas regiones del Perú, por lo que es necesario ofrecer alternativas con fuentes ricas en proteínas y de bajo costo. Las proteínas del frijol de palo presentan buena calidad y propiedades funcionales adecuadas para la industria de alimentos que pueden ser aprovechados en diversos productos.

En el presente trabajo se estudió la obtención de parámetros óptimos para la obtención de proteína de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) como también conocer sus principales características funcionales y químicas del producto obtenido y el potencial que tiene esta proteína para contribuir a diferentes usos y aplicaciones como alimentación animal e incluso funcionar como complemento de una alimentación para los sectores más

humildes de la región San Martín; éste trabajo de investigación, tiene los siguientes objetivos.

Objetivo General:

- Obtener un aislado proteico a partir de frijol de palo (*Cajanus cajan L.*) por medio de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica.

Objetivos Específicos:

- Caracterización química, de los granos secos de los frijoles de palo (*Cajanus cajan L.*)
- Realizar el análisis químico proximal del aislado proteico obtenido.
- Optimizar las operaciones de proceso para obtener un aislado proteico de granos secos de frijoles de palo (*Cajanus cajan L.*)
- Determinar el perfil aminoacídico de las proteínas aisladas de granos de frijoles de palo (*Cajanus cajan L.*)
- Determinar el Score Proteico o cómputo aminoacídico corregido por la digestibilidad verdadera.



# CAPÍTULO I

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Generalidades

El frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) se encuentra clasificado en la familia Papilionaceae, género *Cajanus*, esta especie se caracteriza por la producción de semillas con un alto contenido de carbohidratos y proteína (Gaviria, 2013; Rachapudi et al., 2015).

La semilla del frijol de palo es utilizada para la alimentación humana y animal, la cual se puede consumir fresca o seca, en diferentes presentaciones como guiso, sopas y al vapor (Santhanam, 2014). También es utilizada para la fabricación de harinas, lo que lleva a darle diferentes aplicaciones alimenticias.

### 1.2. Origen y distribución

El origen de *Cajanus cajan* es confuso, ha sido cultivado por mucho tiempo en algunas regiones de Asia (quizás por 3,000 años), pero los botánicos geógrafos colocan su origen en el África tropical; sus semillas probablemente siguieron las rutas de la trata de esclavos desde el África hasta el Nuevo Mundo, asumiéndose, tentativamente, que *Cajanus cajan* es originario de África (ECHO, 2015).

Se cree que este frijol ha sido usado por más de 4000 años. Se considera que la región de la India fue el centro del origen del frijol de palo cultivado, pero la existencia de poblaciones silvestres de *Cajanus cajan* en Angola y nombres populares como Congobean o Congopea sustentan la idea de que el centro de origen del frijol de palo es África (Saladin, 1990).

### 1.3. Descripción botánica

Es un arbusto anual o perenne que puede llegar a alcanzar de 3 a 5 metros de altura. Hojas trifoliadas, con foliolos elípticos, agudos en ambos extremos con el haz de color verde oscuro y el envés de color verde claro cubierto por una pubescencia blanquizca y fina (Barahona, 2005).

Según Saladin (1990), el frijol de palo tiene las siguientes partes:

### **1.3.1. Tallo**

El frijol de palo, (*Cajanus cajan* L.), es un arbusto anual o perenne, que presenta una variación muy amplia en las partes de la planta. El tallo tiene ramificaciones primarias, secundarias y terciarias, y dependiendo de éstas se distinguen algunas variedades comerciales: ramificaciones colgantes en las variedades Kaki y UASD y ramificaciones inclinadas u oblicuas hacia arriba, en relación al eje del tallo, en el caso de las variedades Pinto de Villalba y Todo el Año (Saladin, 1990).

### **1.3.2. Raíz**

El sistema radicular se compone de una raíz pivotante y de raíces laterales que alcanzan hasta 3 metros de profundidad, lo cual le permite soportar bien la sequía y adaptarse a suelos pobres. La altura de la planta varía según la época de siembra, la altitud y la variedad. Por lo general, las variedades foto sensitivas (sensibles a la luz) son más vigorosas que las variedades no foto sensitivas, llegando a alcanzar una altura de 3-4 metros, cuando se plantan en zonas bajas y durante la época de primavera.

Las hojas son trifoliadas, alternas y sésiles sobre las ramas terciarias. Los folíolos son elípticos, agudos, en ambos extremos, con el haz de color verde oscuro y el envés de color verde claro cubierto de una pubescencia blancuzca y fina.

### **1.3.3. Flores**

Las flores son típicas de la familia Papilionaceae, en racimos axilares con pocas flores, erecto y con un pedúnculo largo. Las flores son de color amarillo sin nervaciones o manchas, amarillas con nervaciones rojizas o del tipo bicolor amarillo y púrpura. La floración se inicia, dependiendo de la variedad, a partir de los 105-210 días; el proceso de fecundación – formación de vainas e inicio de la cosecha en verde es unos 45 días.

Las flores se presentan en racimos, de color amarillo con manchas rojizas o de combinaciones amarillo y púrpura. El sistema radicular está compuesto de una raíz pivotante y de raíces laterales que pueden llegar a medir hasta 3 metros de profundidad.

Las vainas contienen de 5-7 granos, de color verde en los primeros estadios y amarillento o crema en la maduración (según la variedad) (Cazabonne, 2009).



*Figura 1.* Flores del frijol de palo. (Fuente: Veracruz, 2006)

#### **1.3.4. Fruto**

El fruto es de color verde claro, verde oscuro o verde jaspeado de púrpura durante el llenado de las vainas y de color crema o de crema jaspeado a la maduración. La forma de las vainas puede ser cilíndrica o aplanada, con 5-7 granos/vainas de color verde, blanquecino o amarillento al momento de la maduración, según las variedades.



*Figura 2.* Fruto del frijol de palo. (Fuente: Veracruz, 2006)

El frijol de palo es una especie muy rustica que es menos eficiente que las gramíneas debido al sistema radicular pivotante pero es gran productora de fitomasa y excelente banco de proteínas, 60 toneladas de forraje verde contienen 15 toneladas de materia seca con promedios de 16 % de proteína bruta. En consecuencia se aconseja este forraje como banco de proteína para la suplementación animal. Además es una de las especies que posee mayor potencial para la alimentación de cerdos y aves.

#### 1.4. Clasificación taxonómica

Según Cedano (2006) el frijol de palo tiene la siguiente clasificación taxonómica:

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Clase</b>	Angiosperma
<b>Subclase</b>	Dicotyledoneae
<b>Orden</b>	Leguminosae
<b>Familia</b>	Papilionaceae
<b>Genero</b>	<i>Cajanus</i>
<b>Especie</b>	<i>cajan</i> L.

Según Skerman, *et al.* (1991), el *Cajanus cajan* presenta los siguientes:

**Sinónimos:** *C. indicus* Spreng; *C. flavus* DC.; *Cytisus cajanus* L.; *Cajanus cajan*.

**Nombres comunes:** Guandul, poroto guandul, poroto paraguayo, sacha café, falso café, arveja (Argentina); “guando” (Brasil); quinchoncho (Venezuela), frijol de árbol (México), frijol de palo (Perú); cumandai (Paraguay).

#### 1.5. Fisiología y agroecología del cultivo del frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)

El *Cajanus cajan* es una planta de día corto, existen variedades de día largo, floración semideterminada, una mata de gandul forma hasta 5000 flores en un mes. El desarrollo inicial es moderado, el crecimiento productivo es alto, el crecimiento radical tiene gran capacidad para el reciclaje de nutrientes (Ulrike, 1997).

Estudios realizados por PASOLAC en 2000 mencionan que, el frijol de palo se adapta bien a altitudes bajas y medias que van desde los 0 a 1500 msnm. Las temperaturas óptimas van desde los 18 – 35°C. Las precipitaciones desde 700 -2500mm anuales, requiere de 5 meses de lluvias para establecerse bien y para sobrevivir el verano. Se adapta a suelos arenoso-francos y franco-arcillosos. La profundidad requerida de los suelos es de más de 30 centímetros de profundidad. Crece en suelos de buena y moderada infiltración, no es tolerante a encharcamientos y no se adapta bien a suelos pedregosos.

La tolerancia a la sequía es buena posee un sistema radical profundo, en la estación seca puede producirse caída de la hoja en el tercio inferior de la planta, la cual es una función natural.

### 1.6. Contenido nutricional

La calidad nutricional de los granos descascarillados de las variedades rojas y blancas contiene grasas, fibras, ácidos grasos esenciales y componentes de vitamina E (tocoferoles y trazas de tocotrienoles) (Instituto colombiano de bienestar familiar, 2005).

Algunos autores han determinado la composición química de semillas de frijol de palo crudo, los resultados son presentados en la tabla 2, las variaciones en la composición proximal se deben a la variedad de la semilla, etapa de madurez, tipo de suelo y condiciones climáticas que pueden haber afectado los parámetros fisicoquímicos en el cultivo (Akende et al., 2010).

**Tabla 1**

*Composición nutricional del frijol de palo (Cajanus cajan L.) y la soya (Glycine max) en 100 gr de parte comestible.*

Fuente: Butt y Batool, (2010)

<b>Componentes</b>	<b>Soya</b>	<b>Frijol de palo</b>
<b>Calorías, cal</b>	422	336
<b>Humedad, g</b>	9,5	14
<b>Proteína, g</b>	31	19,5
<b>Grasa, g</b>	16,1	1,4
<b>Carbohidratos, g</b>	38,1	61,4
<b>Cenizas, mg</b>	5,2	3,7
<b>Calcio, mg</b>	210	100
<b>Fòsforo, mg</b>	500	400
<b>Hierro, mg</b>	8,9	5,2
<b>Vitamina A, UI</b>	40	90
<b>Tiamina, mg</b>	0.77	0.61
<b>Rivoflavina, mg</b>	0.15	0.10
<b>Niacina, mg</b>	2,2	2
<b>Ácido ascórbico , mg</b>	9	4

**Tabla 2**

*Composición química y nutricional semillas crudas de frijol de palo (Cajanus cajan L.)*

<b>Parámetro</b>	<b>Autores</b>		
	<b>Butt y Batool</b>	<b>Akende et al.</b>	<b>Etonihu et al.</b>
<b>Humedad (%)</b>	11.7 ± 0.5	-	6.49
<b>Proteína seca (%)</b>	22.01 ± 1.00	21.03	18.65
<b>Grasa cruda (%)</b>	2.03 ± 0.09	4.43	1.80
<b>Fibra cruda (%)</b>	8.19 ± 0.37	7.16	10.27
<b>Cenizas (%)</b>	3.96 ± 0.18	3.76	4.92
<b>NFE (%)</b>	63.80 ± 2.90	-	57.87

Fuente: Akende et al. 2010; Etonihu et al. 2009; Butt y Batool. 2010

Resultados similares refiere Torres (2001), quien señala que las semillas de esta leguminosa contienen aproximadamente 18,8 % de proteínas, 1,9 % de grasa, 26,8 % de fibra dietética total, 3,4 % de cenizas y 49,1 % de carbohidratos.

La caracterización físicoquímica y propiedades funcionales de la harina de frijol de palo (*Cajanus cajan*), demuestra que este alimento es un producto de alta solubilidad (90%) y capacidad de absorción de agua, además de poseer contenidos de almidón, proteína y fibra dietaría adecuados para formular alimentos nutritivos, instantáneos de fácil y rápida preparación (Praderes et al., 2009).

## **1.7. Usos del frijol de palo**

La forma más conocida de su consumo es cocido, en guisos, arroces, etc., representando una fuente económica de proteínas, carbohidratos, fibra dietética, minerales y vitaminas principalmente las del grupo B (Akoja y Mohammed, 2011). Entre los principales usos del frijol de palo se encuentran:

### **1.7.1. Alimentación Humana**

Como alimento humano, las semillas del frijol de palo pueden ser usadas en diferentes formas; en el Perú se consumen en forma de menestras, como acompañamiento de platos secundarios, en sopas, guisos, etc.

Las semillas pueden ser cosechadas en estado verde, usadas como vegetales frescos, congelados o enlatados (Saxena, Kumar, y Sultana, 2010). Por otra parte, la harina de frijol de palo es usada como aditivo para otros alimentos como sopas y arroz (Tiwari, Brennan, Jagannam y Alagusundaram, 2011), y una fuente ideal de suplementación de proteína para alimentos ricos en almidones como la yuca (Akoja y Mohammed, 2011). Es un excelente componente en la industria de snack, ha sido recomendado como un ingrediente para incrementar el valor nutricional de pastas mejorando las propiedades sensoriales (Moyano, Moreno, y Cubero, 2008); teniendo buena aceptabilidad en la extensión de la sémola con harinas de leguminosas en la elaboración de pastas (Granito y Ascanio, 2009), y mejorando la calidad de la proteína (Torres, Granito, y Vidal, 2006). En la industria de biscochos la sustitución de harinas de trigo por frijol de palo incrementa los niveles de proteína y fibra, mejorando la calidad sensorial (Tiwari, Brennan, Jagannam y Alagusundaram, 2011).

### **1.7.2. Alimentación Animal**

Las semillas se aprovechan como pienso para el ganado. El frijol de palo puede ser usado como proteína suplementaria en la dieta diaria de vacas incrementando la producción de leche, materia seca y ambiente ruminal (Corriher, et al., 2010). La dieta a base de semillas de frijol de palo cocidas para conejos machos favoreció el crecimiento óptimo de los cuerpos, peso de los órganos características testiculares a un nivel de inclusión del 20% (Iheukwumere, Onyekwerw, Egu, 2008).

### **1.7.3. Potencial como Planta Forrajera**

El potencial como forraje verde es moderado. Como leguminosa forrajera, el frijol de palo se cultiva sobre todo como suplemento proteico para la alimentación durante los períodos de pastoreo de baja calidad (Whiteman y Norton, 1981). Silva et al. (2009) mostraron que en dietas experimentales con base de harina de forraje de la sandía y digestibilidad del heno de frijol de palo fueron satisfactorias y proporcionaron una ingesta adecuada de materia seca para satisfacer las necesidades nutricionales de los ovinos en crecimiento.

#### **1.7.4. Usos Medicinales**

Saxena et al. (2010) reportaron la importancia de la planta de frijol de palo en la medicina étnica la cual es bien conocida en la prevención de enfermedades humanas como la disentería, enfermedades renales, inflamación y trastornos sanguíneos.

#### **1.8. Proteína**

Las proteínas constituyen, junto con los ácidos nucleicos, las moléculas de información en los seres vivos. Las proteínas juegan un papel central en los sistemas biológicos. La importancia de las proteínas en los sistemas alimenticios no es menor. Poseen propiedades nutricionales, y de sus componentes se obtienen moléculas nitrogenadas que permiten conservar la estructura y el crecimiento de quien las consume; asimismo, pueden ser ingredientes de productos alimenticios y, por sus propiedades funcionales, ayudan a establecer la estructura y propiedades finales del alimento (Badui, 2006).

#### **1.9. Estructura de las proteínas**

Badui (2006) describe a las diferentes estructuras de las proteínas de la siguiente manera:

##### **1.9.1. Estructura primaria**

El primer nivel de organización de una proteína es la secuencia de aminoácidos dictada por la secuencia de ADN del gen que la codifica, es decir, el orden en que se encuentran unidos los aminoácidos en la cadena polipeptídica. Ésta es una propiedad controlada genéticamente, altamente reproducible y única para cada proteína.

Algunos de estos cambios se llaman conservadores: preservan la naturaleza de la cadena lateral, como por ejemplo, un cambio de Asp por Glu, en donde se mantiene la carga negativa.

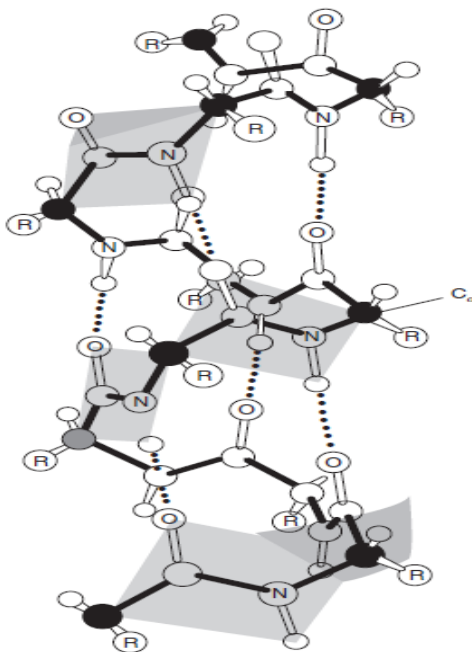




**Figura 3.** Estructura primaria de la proteína. (Fuente: Badui, 2006)

### 1.9.2. Estructura secundaria

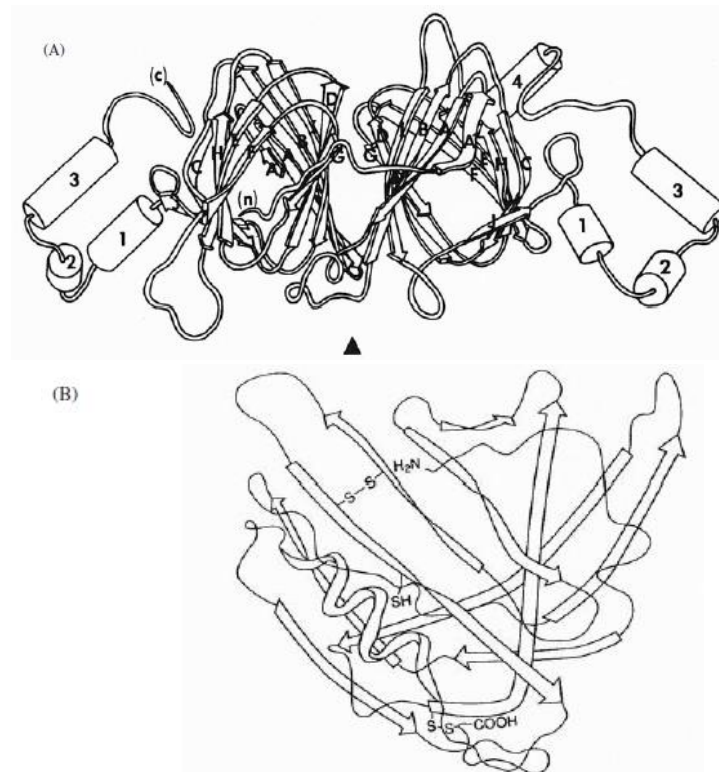
Se refiere al ordenamiento regular y periódico de las proteínas en el espacio, a lo largo de su eje, y que se estabiliza por diversas fuerzas, de las cuales las electrostáticas, los puentes de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y las dipolo-dipolo son las más importantes (Figura 4). La gran mayoría de estos polímeros produce a hélices en las que una vuelta completa consta de 3.6 aminoácidos, y sus cadenas laterales R quedan orientadas perpendicularmente hacia el exterior del eje central (Figura 4), presentan el menor grado de energía libre y es la forma más estable de estructura secundaria. Esta conformación helicoidal puede producirse con los isómeros L o D y además con un enrollamiento hacia la derecha o hacia la izquierda.



**Figura 4.** Hélice  $\alpha$  de la estructura secundaria de las proteínas. (Fuente: Badui, 2006)

### 1.9.3. Estructura terciaria

Este término se refiere al modo en que la cadena polipeptídica se dobla sobre sí misma para producir una estructura plegada y compacta, característica de las proteínas globulares. La estructura terciaria de la b-lactoglobulina y faseolina, proteína de almacén de frijoles bayos, se muestra en la figura 5.



**Figura 5.** Estructuras terciarias de la faseolina (a) y la b-lactoglobulina (b). Las flechas representan las placas b, y los cilindros a las a-hélices. (Fuente: Badui, 2006)

La estructura terciaria de diferentes proteínas que contienen una sola cadena polipeptídica se compone de dominios que se definen como regiones de una secuencia polipeptídica que se pliegan en estructura terciaria de manera independiente. Podría pensarse que son una especie de “miniproteínas” y que todas juntas forman una sola proteína más grande.

### 1.9.4. Estructura cuaternaria

A diferencia de las anteriores, esta estructura no necesariamente existe en todos los polipéptidos y se refiere a la asociación de dos o más cadenas. Las interacciones que estabilizan las cadenas polipeptídicas plegadas en las proteínas con múltiples subunidades

son de los mismos tipos que las que estabilizan la estructura terciaria: puentes salinos o interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrófobas y, en ocasiones, enlaces disulfuro.

Existen diferentes proteínas de importancia biológica que adoptan la forma de dímeros, trímeros, tetrámeros, etcétera. Cualquiera de estos complejos constituyen la estructura cuaternaria; son también llamados estructuras oligoméricas, y pueden formarse de subunidades de proteínas (monómeros) que pueden ser iguales (homogéneos) o diferentes (heterogéneos).

### **1.10. Aminoácidos**

Los aminoácidos son las unidades estructurales de las proteínas, constan de un átomo de carbono  $\alpha$  covalentemente unido a un átomo de hidrogeno, un grupo amina, un grupo carboxílico y una cadena lateral o un grupo R (Fennema, 2000).

Las proteínas naturales contienen hasta 20 diferentes aminoácidos, esenciales (leucina, isoleucina, valina, metionina, lisina, fenilalanina, triptófano, treonina, histidina, arginina) y no esenciales (Acido aspártico, acido glutámico, alanina, asparagina, alanina, cisteína, glicina, glutamina, prolina, serina, tirosina) unidos vía enlaces amida. Las propiedades físico químicas, como la carga neta, la solubilidad, la reactividad química y las posibilidades de establecer enlaces de hidrogeno de los aminoácidos dependen de la naturaleza química de la cadena lateral (Fennema, 2000).

### **1.11. Del gen a la proteína**

El orden en que se encuentran los residuos de aminoácidos en cada proteína, conocida como estructura primaria, está determinado por el gen particular que codifica para dicha proteína. La secuencia de nucleótidos comprendidos en ese gen se transcribe a una molécula de ARN que se llama mensajero (ARNm). Las proteínas se sintetizan sobre los ribosomas por la traducción a polipéptidos de los ARNm. En la mayoría de los casos, las cadenas polipeptídicas inicialmente traducidas sufren modificaciones antes de asumir la conformación funcional en los sistemas vivos. Estas modificaciones postraduccionales comprenden una amplia variedad de reacciones químicas reversibles e irreversibles y han sido reportadas hasta 200 diferentes tipos (Badui, 2006).

### **1.12. Fuentes de proteína**

Los productos animales considerados como las principales fuentes de proteínas son el huevo, la leche y la carne de diversas especies. Todos ellos forman parte de la alimentación humana desde hace miles de años y tradicionalmente han constituido en Occidente fuentes de proteína de calidad. Su presencia en la dieta es parte de la historia evolutiva del hombre si bien, actualmente su abundancia en la dieta es muy cuestionada. La principal objeción se debe a la grasa que normalmente acompaña a la carne, y a los enormes cambios en el patrón de vida, de las poblaciones primitivas de cazadores que realizaban un altísimo nivel de actividad física, a la vida sedentaria actual, por lo que la presencia de lípidos en estos productos constituyen actualmente un riesgo para el sistema cardiovascular (Larsen, 2003).

Los componentes animales de la dieta son, además, controvertidos por problemas asociados a alergias en el caso de la leche y el huevo, porque se han presentado problemas sanitarios y toxicológicos como el caso de *Salmonella* en huevo, (Mazurek, Holbert, Parrish y Salehi, 2005) el caso de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE), o presencia residual de hormonas en la carne de animales criados con técnicas modernas, así como por la relación hallada entre la ingesta y la incidencia de cáncer. No obstante, las proteínas presentes en estos sistemas constituyen, sin duda, garantía de calidad nutricional y sus propiedades funcionales pueden ser ampliamente explotadas. Además, ofrecen excelentes modelos de estudio para investigación básica y aplicada (Roma y Prayson, 2005).

### **1.13. Proteínas Vegetales**

Las proteínas vegetales constituyen una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales de interés por su variedad, disponibilidad y costo, explotándose tanto las propiedades funcionales como los beneficios nutricionales de cada grupo de proteínas. Inclusive, se pueden emplear ya para el diseño de empaques biodegradables. Las proteínas vegetales se obtienen principalmente de semillas de leguminosas, cereales, oleaginosas y en baja proporción de hojas verdes. Existe una gran variabilidad de niveles de proteína aun en variedades de la misma especie, lo que depende de factores genéticos, climáticos y ecológicos. Las posibilidades de aprovechamiento en la industria de alimentos dependen tanto de su resistencia al procesamiento como de la presencia de compuestos antinutricionales en la fuente vegetal de interés (Badui, 2006).

Este grupo de proteínas se ha estudiado desde hace más de 250 años, en particular lo referente a las proteínas de leguminosas. Inicialmente se han clasificado y agrupado en términos de solubilidad con el procedimiento de Osborne o según su función: estructurales o metabólicas, de defensa, resistencia a estrés o de almacenamiento.

La función biológica de las principales proteínas vegetales que se explotan comercialmente es formar parte del endospermo de la semilla, a la que nutren durante la germinación y desarrollo, procesos durante los que se modifican los niveles de las diferentes proteínas. El grupo proteínico preponderante varía de acuerdo al grupo de plantas del que se trate: en el caso de los cereales dominan las glutelinas, en las leguminosas las globulinas (Badui, 2006).

Los ingredientes vegetales ocupan un lugar importante en la dieta de la población menos favorecida en términos económicos, y por otro lado entre quienes por diferentes razones (filosóficas, religiosas, económicas, visión de salud) optan por regímenes alimentarios libres de productos animales. Su valor agregado puede incrementarse al obtener y explotar componentes por su composición y funcionalidad, rubro en el que han adquirido gran importancia los aislados proteínicos de diferentes fuentes, en especial los de soya (Badui, 2006).

#### **1.14. Proteínas de leguminosas**

Las leguminosas comprenden cerca de 20,000 especies y tienen gran importancia tradicional en la dieta tanto oriental como occidental. Las familias correspondientes son leguminosas y fabáceas, y las principales especies que se explotan son frijol (*Phaseolus vulgaris*), chícharo (*Pisum sativum*), lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*), cacahuete (*Arachis hypogaea*), haba (*Vicia faba*) y soya (*Glycine max*). Su superficie cultivada correspondía al 13% del área sembrada mundialmente en 2004 y se produjeron 300 millones de toneladas métricas, que proveen (a nivel mundial) el 30% del nitrógeno de la dieta (Gepts, et al., 2004).

Son particularmente importantes en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza, ya que la gran mayoría tiene la capacidad de asociación con bacterias simbióticas que contribuyen a fijar nitrógeno atmosférico, por lo que su producción puede llevarse a cabo con menor cantidad de fertilizantes que la que usan los cereales (Graham y Vance, 2003).

Existe, además, un gran número de especies no explotadas que podrían introducirse como alimento o sus derivados, como diversas especies de lupinos o frijoles silvestres, así como posibilidades de explotar generando productos de mayor valor agregado, como los aislados proteicos, especies explotadas tradicionalmente como comestibles, como el caso del chícharo (Gueguen y Cerletti, 1994).

### **1.15. Desnaturalización de proteínas**

En el caso de las proteínas, la palabra desnaturalización indica que la estructuración se aleja de la forma nativa debido a un importante cambio en su conformación tridimensional, producido por movimientos de los diferentes dominios de la proteína, que conlleva un aumento en la entropía de las moléculas. Este cambio conformacional trae como consecuencia pérdidas en estructura secundaria, terciaria o cuaternaria, pero no cambios en la estructura primaria, es decir, que la desnaturalización no implica una hidrólisis del enlace peptídico (Badui, 2006).

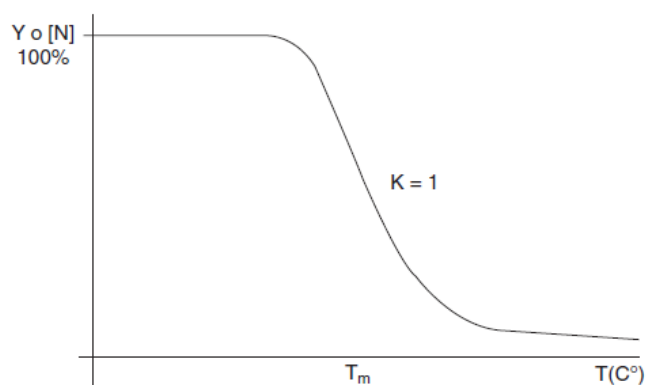
Por otro lado, Kilara y Sharkasi (1986), indican que la desnaturalización puede definirse como un cambio en la estructura secundaria, terciaria y/o cuaternaria, sin involucrar rupturas en las uniones de las cadenas polipeptídicas que conforman la estructura primaria, durante este proceso, las proteínas pueden perder su actividad biológica y grupos funcionales que estaban en el interior de la molécula son expuestos, permitiendo nuevas interacciones inter e intra moleculares.

#### **1.15.1. Termodinámica de la desnaturalización**

La estabilización de una macromolécula es un proceso cooperativo, es decir, está dada por la intervención de múltiples enlaces no-covalentes, que son de baja energía pero muy frecuentes en la estructura. El estudio de la termodinámica de este proceso implica lograr realizarlo de forma reversible, lo que requiere que una vez eliminado el agente desnaturalizante, la proteína pueda regresar a su conformación original. El estado nativo o activo de una proteína puede ser detectado gracias a diferentes técnicas que observan el estado en equilibrio de las moléculas de proteína. Pueden ser técnicas ópticas, como la dispersión óptica rotatoria, el dicroísmo circular o la absorción UV. También pueden utilizarse procesos de transporte como mediciones de la actividad o propiedades de una proteína, y se utilizan la viscosidad, la sedimentación o la difusión, ya que los cambios en la forma de las proteínas por su desplegamiento o extensión causados por la desnaturalización

afectan su comportamiento en cualquiera de estos procesos. Otro método es la calorimetría, que permite analizar los cambios en absorción de calor ocasionados por los movimientos de los dominios en las moléculas proteínicas (Badui, 2006).

La desnaturalización es un fenómeno que implica la transformación de una estructura plegada, bien definida, formada en condiciones fisiológicas, a un estado desplegado en condiciones no fisiológicas. Como la estructura no es un parámetro fácil de cuantificar, no es posible medir directamente las fracciones nativa y desnaturalizada de una proteína en disolución (Fennema, 2000).



**Figura 6.** Esquema de la desnaturalización típica de una proteína donde Y representa una actividad hipotética o propiedad de la proteína, o bien, la concentración de la forma nativa de la proteína [N]. K 5 Constante de equilibrio y  $T_m$  5 temperatura de “melting”. (Fuente: Badui, 2006).

### 1.15.2. Desnaturalización por cambios de temperatura

La aplicación de calor es uno de los agentes desnaturalizantes que se utilizan con mayor frecuencia en alimentos ya que facilita la digestión de las proteínas, y logra desnaturalizar los inhibidores de proteasas que frecuentemente se hallan en alimentos basados en proteínas de leguminosas. Ambos procesos facilitan la digestión por las enzimas hidrolíticas del tracto gastrointestinal. La aplicación de calor afecta la estabilidad de las interacciones no-covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el delicado balance de los enlaces que mantienen el equilibrio. Puesto que también se afectan las propiedades funcionales del alimento, es importante realizar un análisis de los procesos termodinámicos involucrados (Badui, 2006).

### 1.15.3. Desnaturalización por cambios de pH

Un cambio en el pH del ambiente natural o fisiológico de las proteínas puede acarrear modificaciones importantes en su conformación debido a cambios en la ionización de las cadenas laterales cargadas porque se afecta el número de los puentes salinos que estabilizan la estructura nativa. Una desnaturalización alcalina implica la neutralización de la carga positiva de cadenas laterales de Lys, His y Arg, una desnaturalización ácida implica la protonación de cargas de Asp, Glu; ambos casos impiden la formación de una interacción electrostática. En los procesos tecnológicos que involucran la obtención de aislados proteínicos vegetales es el tratamiento alcalino el que se aplica con mayor frecuencia. Se utiliza para elevar la concentración de proteína y requiere de una solubilización alcalina a valores de pH cercanos a 10 (López, Flores, Gálvez, Quirasco, y Farrés, (2003).

### **1.16. Propiedades funcionales de las proteínas**

La funcionalidad de una sustancia se define como toda propiedad, nutricional o no, que interviene en su utilización. Este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento. Las propiedades funcionales permiten el uso de las proteínas como aditivos en alimentos, aunque generalmente se incorporan en mezclas complejas.

Las características sensoriales resultan de más importancia para el consumidor que el valor nutricional, el que frecuentemente se altera para lograr buenas cualidades organolépticas, como textura, sabor, color y apariencia, las que a su vez son el resultado de interacciones complejas entre los ingredientes (Fligner y Mangino, 1991).

#### **1.16.1. Solubilidad**

Las propiedades funcionales de las proteínas a menudo se ven afectadas por la solubilidad de la proteína, especialmente en el caso del hinchamiento, espumado, emulsificación y gelificación (Hettiarachchy, Griffin y Gnanasambandam, 1996).

Las proteínas insolubles tienen un uso muy limitado en alimentos. La solubilidad de una proteína es la manifestación termodinámica del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y solvente-proteína, que a su vez dependen de la hidrofobicidad y naturaleza iónica de las mismas (Hayase, Kato, y Fujimaki, 2003).

##### **1.16.1.1. Clasificación de las proteínas en base a su solubilidad**

Badui (2006) menciona las cuatro categorías en que se clasifican las proteínas de acuerdo con las características de solubilidad:



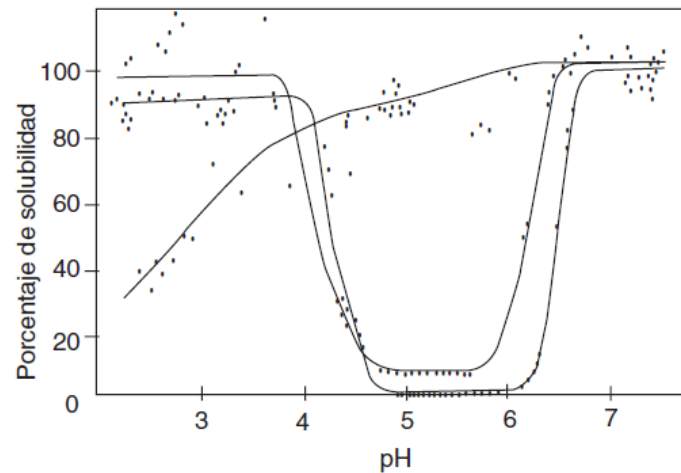
- **Albúminas** son las que se solubilizan en agua a pH 6.6 (albúmina sérica, ovoalbúmina, y a lactoalbúmina).
- **Globulinas** son las solubles en soluciones salinas diluidas a pH 7.0 (glicinina, faseolina y b-lactoglobulina).
- **Glutelinas** son las solubles en soluciones ácidas (pH 2) y alcalinas (pH 12) (glutelinas de trigo).
- **Prolaminas** son las solubles en etanol al 70% (zeína, gluten de maíz y las gliadinas del trigo).

Cabe mencionar que tanto las prolaminas como las glutelinas son proteínas altamente hidrofóbicas. La solubilidad de las proteínas se afecta por las condiciones de la solución, como el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de solventes orgánicos, además de las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de las moléculas (Shewry, Franklin, Parmar, Smith y Miflin, 2008). A continuación se detallan algunos efectos.

#### ✓ **Solubilidad y pH**

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 asilados 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. 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 (Lakemond, De Jongh, Hessing, Gruppen, y Voragen, 2000).

Así, por ejemplo, el aislado de proteínas del suero nativo es completamente soluble en el intervalo de pH de 2 a 9, pero cuando se calienta a 70°C por un minuto hasta 10 min se desarrolla un perfil de solubilidad en forma de U con un mínimo de solubilidad a pH de 4.5 (Figura 7).



**Figura 7.** Perfiles de solubilidad respecto del pH para glicina después de incubaciones a 0.6 mg/mL por 16 h a 20°C. (Fuente. Badui, 2006)

### ✓ Solubilidad y fuerza iónica

La fuerza iónica de una solución salina se representa por la siguiente ecuación.

$$\mu = 0.5 \sum C_i Z_i^2$$

donde  $C_i$  es la concentración de un ión, y  $Z_i$  es su valencia. En una fuerza iónica baja ( $\mu < 0.5$ ), los iones neutralizan la carga en la superficie de la proteína. La solubilidad disminuye para las proteínas que contienen una alta incidencia de zonas no polares y se incrementa para las proteínas que no. El primer comportamiento es típico de las proteínas de soya (Lakemond et al., 2000).

### ✓ Solubilidad y temperatura

A un pH y fuerza iónica constante, la solubilidad de muchas proteínas generalmente se incrementa sometiendo a una temperatura entre 0 y 40°C. Se presentan excepciones cuando las proteínas son altamente hidrofóbicas, como la  $\beta$ -caseína y algunas proteínas de los cereales, las cuales presentan relaciones negativas con temperaturas arriba de los 40°C. El aumento de la energía térmica causa desplegamiento de las proteínas (desnaturalización), ya que los grupos no polares son expuestos, se da la agregación y precipitación de las proteínas, y por lo tanto la solubilidad disminuye (Lapanje, 2005).

### ✓ Solubilidad y solventes orgánicos

La adición de solventes orgánicos, como el etanol o acetona, incrementa las fuerzas electroestáticas intra e intermoleculares, tanto repulsivas como atractivas. Las interacciones electroestáticas intramoleculares repulsivas provocan que la molécula proteínica se despliegue, estado en el que se promueve la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre los péptidos ahora expuestos; además se promueven interacciones electroestáticas intermoleculares que son, por el contrario, atractivas entre los grupos con cargas opuestas. Estas interacciones intermoleculares polares favorecen la precipitación de la proteína en solventes orgánicos o reducen la solubilidad en un medio acuoso. Las interacciones hidrofóbicas entre los residuos expuestos pueden también contribuir a la insolubilización al promover agregación (Badui, 2006).

La solubilidad de las proteínas está íntimamente relacionada con el estado estructural, por lo que esta propiedad se puede utilizar como un indicador del grado de la desnaturalización durante los procesos de extracción, aislamiento y procesos de purificación, o como un indicador de las aplicaciones potenciales de las proteínas. Los concentrados de proteína y aislados preparados comercialmente muestran un amplio rango de solubilidad, que se puede expresar como Índice de Solubilidad de la Proteína (PSI) o Índice de Dispersabilidad de la Proteína (PDI) (porcentaje de proteína soluble presente en la muestra proteínica). El PSI de aislados proteínicos comerciales varía de 25 a 80% (Damodaran, 2000).

#### **1.16.1.2. Propiedades interfaciales de las proteínas**

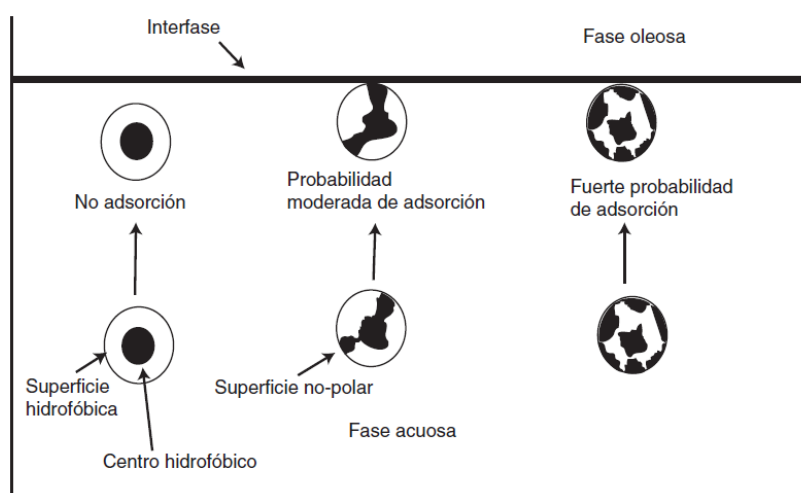
Las propiedades de actividad superficial de las proteínas no dependen sólo de la relación hidrofobicidad/ hidrofiliidad, sino de la conformación de la proteína. En ello se debe considerar la relación de la estabilidad/flexibilidad de la cadena polipeptídica, la adaptabilidad a los cambios en el medio ambiente así como los patrones de distribución de los grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en la superficie de la proteína (Dauphas, et al., 2005).

Las proteínas presentan en su superficie activa tres atributos deseables: (a) capacidad para adsorberse rápidamente en una interfase, (b) capacidad para desplegarse rápidamente y reorientarse en una interfase y (c) capacidad aún en la interfase para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas. Un ejemplo del primero de ellos es la formación de una espuma y emulsión estables durante el batido o la homogeneización

debido a la adsorción espontánea y rápida de las proteínas a la nueva interfase (Badui, 2006).

### ✓ **Propiedades emulsificantes**

Para formular una emulsión se requiere: aceite, agua, un emulsificante y energía, generalmente mecánica. Las proteínas como surfactantes son las preferidas para formular emulsiones alimenticias (aceite-agua), debido a que su superficie es activa y favorece la resistencia a la coalescencia (Figura 8) (Nio, Motoki, y Takinami, 2007).



**Figura 8.** Representación esquemática del papel de los parches hidrofóbicos en la superficie de las proteínas sobre la probabilidad de adsorción de las moléculas en la interfase aire-agua. (Fuente: Badui, 2006).

### ✓ **Capacidad emulsificante**

La capacidad emulsificante (EC) es el volumen (mL) de aceite que puede ser emulsificado por gramo de proteína, en un ensayo en el que se añade aceite paulatinamente y se reporta el volumen adicionado antes de que ocurra la inversión de la fase, caracterizada por una inversión de la emulsión de aceite en agua hacia agua en aceite. Este método involucra la adición del aceite o grasa fundida, a velocidad y temperatura constantes, sobre una solución acuosa de proteína con agitación continua con un homogeneizador. El punto de inversión de la fase se reconoce por un cambio abrupto en la viscosidad o color, o por un aumento en la resistencia eléctrica.

Para una emulsión estabilizada con proteínas la inversión de la fase se presenta generalmente cuando la fase apolar dispersa está entre 0.65-0.85 (McClemens, 1999).

### ✓ **Propiedades espumantes**

Las espumas consisten de una fase continua acuosa y una fase dispersa gaseosa (aire). Muchos alimentos procesados son productos tipo espumas: crema batida, helados de crema, pasteles, merengues, pan, soufflés, mousses y malvaviscos. Las propiedades de textura son únicas debido a la dispersión de numerosas burbujas de aire pequeñas y a la formación de una película delgada en la interfase líquido-gas llamada frecuentemente lamela (Badui, 2006).

Las propiedades espumantes son evaluadas por diferentes principios. La capacidad espumante de una proteína se refiere a la cantidad de área interfacial que puede ser creada por la proteína, que se puede expresar en diversas formas, como sobrerrendimiento o poder de espumado (Kinsella, 2002).

### ✓ **Viscosidad**

El coeficiente de viscosidad de la mayoría de las soluciones de proteínas sigue una relación exponencial con la concentración de la proteína debido a las interacciones proteína-proteína e interacciones entre las esferas de hidratación de las moléculas de las proteínas. En altas concentraciones de proteínas o en geles donde las interacciones proteína-proteína son numerosas y fuertes, se observa un comportamiento viscoelástico. En este caso se requiere, para iniciar el flujo, de una fuerza específica también conocida como “yield stress” (Bienvenue, Jiménez y Singh, 2003).

La viscosidad de las soluciones de proteínas es una manifestación de interacciones complejas, que incluyen el tamaño, la forma y las interacciones con el solvente de la proteína, el volumen hidrodinámico y la flexibilidad molecular en el estado hidratado, que resulta mucho más voluminoso que cuando se trata de la proteína no hidratada (Badui, 2006).

### ✓ **Gelación**

La gelación de proteínas se refiere a la transformación de una proteína en el estado “sol” a un estado “gel”, que se facilita por calor, enzimas, o cationes divalentes bajo condiciones apropiadas y que inducen la formación de una estructura de red, cuyos mecanismos de formación pueden diferir considerablemente (Tay, Guo y Conrad, 2005). La mayoría de los geles de proteínas se preparan calentando la solución de proteína, lo que induce una desnaturalización que puede ser considerada un estado “progel”, que es un líquido viscoso en el que ocurren algunos eventos de polimerización de la proteína. Ésta se despliega y se exponen numerosos grupos funcionales, como los puentes de hidrógeno y los grupos hidrofóbicos. Un segundo estado es la formación de una red de proteína entre las moléculas desplegadas, a menudo irreversible. Cuando el progel se enfría, a temperatura ambiente o de refrigeración, baja la energía cinética y esto facilita la formación de uniones estables no covalentes gracias a la exposición de grupos funcionales de varias moléculas, lo que constituye la gelificación (Renkema et al., 2000).

#### **1.16.1.3. Evaluación de la calidad proteínica**

El primer objetivo al evaluar la calidad de una proteína es otorgarle una calificación con base en su valor nutritivo potencial, de esta manera se puede construir un registro de las proteínas y en el caso de que la proteína o el alimento sufran cambios en el valor nutritivo a través del proceso y almacenamiento será más fácil detectar el cambio en su calificación (Moughan, 2005).

La medición más exacta de la calidad de nuevas fuentes proteínicas para uso humano se obtiene mediante estudios clínicos realizados en sujetos, miembros de una población dada en los que se mide ya sea el crecimiento u otros indicadores metabólicos, como es el caso del Balance de Nitrógeno (NB) en que se evalúa el nitrógeno retenido (Badui, 2006).

Entre los estudios que se han desarrollado, la Relación de la Eficiencia de la Proteína (PER) es un bioensayo que ha sido ampliamente utilizado desde 1919, mediante el cual se evalúa la ganancia de peso por gramo de proteína consumido, verificada por ratas jóvenes a las cuales se les administra una dieta de prueba (Campbell, 1999).

Teóricamente, una buena manera de evaluar la calidad de una proteína sería analizando químicamente su contenido de aminoácidos y comparándolo con los requerimientos de los seres humanos (Sarwar y McDonough, 1990). Durante mucho

tiempo, en la práctica no se contó con los medios para determinar de manera reproducible la composición aminoacídica de las proteínas, ni tampoco los requerimientos humanos con exactitud. Sin embargo, en 1985 se publicó un patrón basado en el requerimiento de aminoácidos indispensables de niños en edad preescolar así como los requerimientos de otros grupos concretos, por parte de la FAO/WHO/UN (Badui, 2006).

✓ **Digestibilidad**

Fenemma, (2000) indica que la digestibilidad de un alimento se define como la proporción del nitrógeno del mismo que es absorbida tras su ingestión. Aunque el contenido en aminoácidos sea el principal indicador de la calidad de la proteína, su verdadera calidad depende también de la extensión en que estos aminoácidos sean utilizados por el organismo. Por ello, la digestibilidad puede afectar la calidad proteica. Las proteínas de origen animal son mejor digeridas que las de origen vegetal, esta digestibilidad se ve afectada por diversos factores.

✓ **Conformación proteica**

La estructura de una proteína influye su hidrólisis por las proteasas. Las proteínas nativas suelen ser menos hidrolizadas que las parcialmente desnaturalizadas. Por regla general, las proteínas fibrosas insolubles y las globulares muy desnaturalizadas son difíciles de hidrolizar.

✓ **Factores anti nutricionales**

La mayor parte de los refinados de proteínas vegetales y de los concentrados de las mismas contienen inhibidores de la tripsina y de la quimotripsina (de tipo Kunitz y Bowman-Birk) y lecitinas. Estos inhibidores dificultan la hidrólisis total de las proteínas de las leguminosas y de las semillas oleaginosas por las proteasas pancreáticas. Las lecitinas, que son glicoproteínas, se fijan a las células de la mucosa intestinal e interfieren la absorción de los aminoácidos.

✓ **Unión a otros componentes**

La interacción de las proteínas con los polisacáridos y la fibra dietética reduce también la velocidad de hidrólisis y profundidad y la magnitud de ésta.

## ✓ **Procesado**

Las proteínas sufren varias alteraciones químicas, en las que participan los restos lisilo, si se exponen a temperaturas elevadas y pHs alcalinos. Se reduce así su digestibilidad. La reacción de los azúcares reductores con los grupos  $\epsilon$ -amino también disminuye la digestibilidad de la lisina.

### **1.17. Aislado proteico**

Se considera aislado proteico aquel cuyo contenido de proteínas es mayor al 70%. En él las proteínas constituyentes deben ser exactamente las que se encontraban en la fuente orgánica inicial, sin haber sufrido procesos de degradación o hidrólisis no deseables (Curare, 2006).

Los aislados proteicos pueden ser utilizados en la elaboración de diferentes productos en la industria alimentaria, tales como productos horneados, en la elaboración de bebidas para deportistas, de embutidos, para la preparación de alimentos para bebés, por mencionar algunos. Las proteínas se usan como aditivos en suplementos nutricionales para mejorar el perfil de aminoácidos e incrementar el contenido de proteínas, pero también para aportar beneficios funcionales como emulsificación, estabilización e incremento de viscosidad, mejoramiento de la apariencia, del gusto, la textura y la absorción de agua o aceite (Giese, 1994).

Existen muchos estudios respecto a aislados proteicos, los que van desde el popular aislado de soya, hasta alimentos menos difundidos como la mucuma (Adebowale y Lawal, 2003). En el caso del aislado de soya, se ha estudiado muy ampliamente cómo modificar sus propiedades funcionales (Añón et al., 2000). Situación muy distinta es la del aislado proteico de quinua, en cuyo caso prácticamente no se han reportado publicaciones. De hecho, el estudio de la quinua se ha limitado a la composición y caracterización funcional de la semilla y su harina.

### **1.18. Score Proteico**

El Score Proteico se expresa como la cantidad (mg) de AAe por gramo de la proteína en estudio, en relación con la cantidad del mismo compuesto en la proteína de referencia, es



decir, el patrón aminoacídico establecido para el preescolar. El resultado se expresa de manera porcentual. El valor más bajo es el que corresponde al score y el aminoácido que lo produce se denomina “primer limitante”. Si el valor obtenido para cada aminoácido fuese mayor a 100 %, el SQ del alimento se establece en 100. Esto es así debido a que mientras que el SQ se determina sólo para AAes (y por lo general sólo para aquellos pocos aminoácidos que limitan la calidad de la proteína en la práctica), la demanda metabólica es tanto para AAes como para aminoácidos prescindibles. Debido a esto, cuando cualquiera o todos los AAes están presentes en exceso respecto de las necesidades, la mezcla absorbida es desbalanceada y limitada por los aminoácidos prescindibles. Se supone que estos aminoácidos no esenciales serán suministrados por la oxidación de los AAes excedentes. Si ocurre tal interconversión, entonces todo el nitrógeno absorbido se utilizará de la misma manera que la de una mezcla absorbida que exactamente coincide con la demanda (el patrón de referencia). Sobre esta base, se concluye que no hay ningún beneficio en un SQ > 100, con la posibilidad teórica de una desventaja si la interconversión fuera incompleta (Millward, 2012).

$$SP = \frac{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (estudio)}}{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (referencia)}} \times 100$$

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación y Laboratorio de Tecnología de Productos Naturales no Alimentarios de la Universidad Nacional de San Martín, y otras evaluaciones se complementaron en el Laboratorio de Química y Calidad Total de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) durante los meses de Enero del 2018 a Enero del 2019.

## **2.2. Materiales y equipos**

### **2.2.1. Equipos**

- Agitador magnético con calefacción Marca CAT modelo M 6
- Bureta automática. Marca TITRETTE de 25 ml, clase A precisión – BRAND
- Balanza analítica marca AND modelo GH-200
- Estufa marca POL – EKO Aparatura
- pHmetro marca HANNA Instruments HI 2215 pH/ORP Meter.

### **2.2.2. Materiales de laboratorio**

- Matraces de 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml. Marca KYNTEL.
- Probetas de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500ml. Marca BOECO Germany.
- Pipetas de 10 ml. Marca HIRSCHMANN EM Techcolor Germany
- Fiolas de 250 ml. Marca KYNTEL
- Placas de vidrio
- Papel filtro
- Pinza
- Tubos de ensayo
- Vaguetas
- Vaso precipitado de 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml. Marca NORMAX Portugal
- Soporte universal

### **2.2.3. Reactivos**

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio PM Merck
- Ácido clorhídrico 36% de pureza

## **2.3. Desarrollo experimental**

### **2.3.1. Análisis químico proximal del grano del frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)**

- Humedad: Método de la AOAC (2005). Método 934.06
- Cenizas: Método de la AOAC (2005). Método 940.26
- Fibra bruta: Método de la AOAC (2005). Método 930.10
- Proteína: Método microkjeldahl, recomendado por la AOAC (2005). Método 920.152
- Grasa: Método de la AOAC (2005). Método 930.09

### 2.3.2. Metodología experimental

Se adaptó la metodología descrita por Gonzáles, (1999) de operaciones de proceso para la obtención de aislado proteico a partir de semillas de ébano, el proceso se muestra en la figura 9.

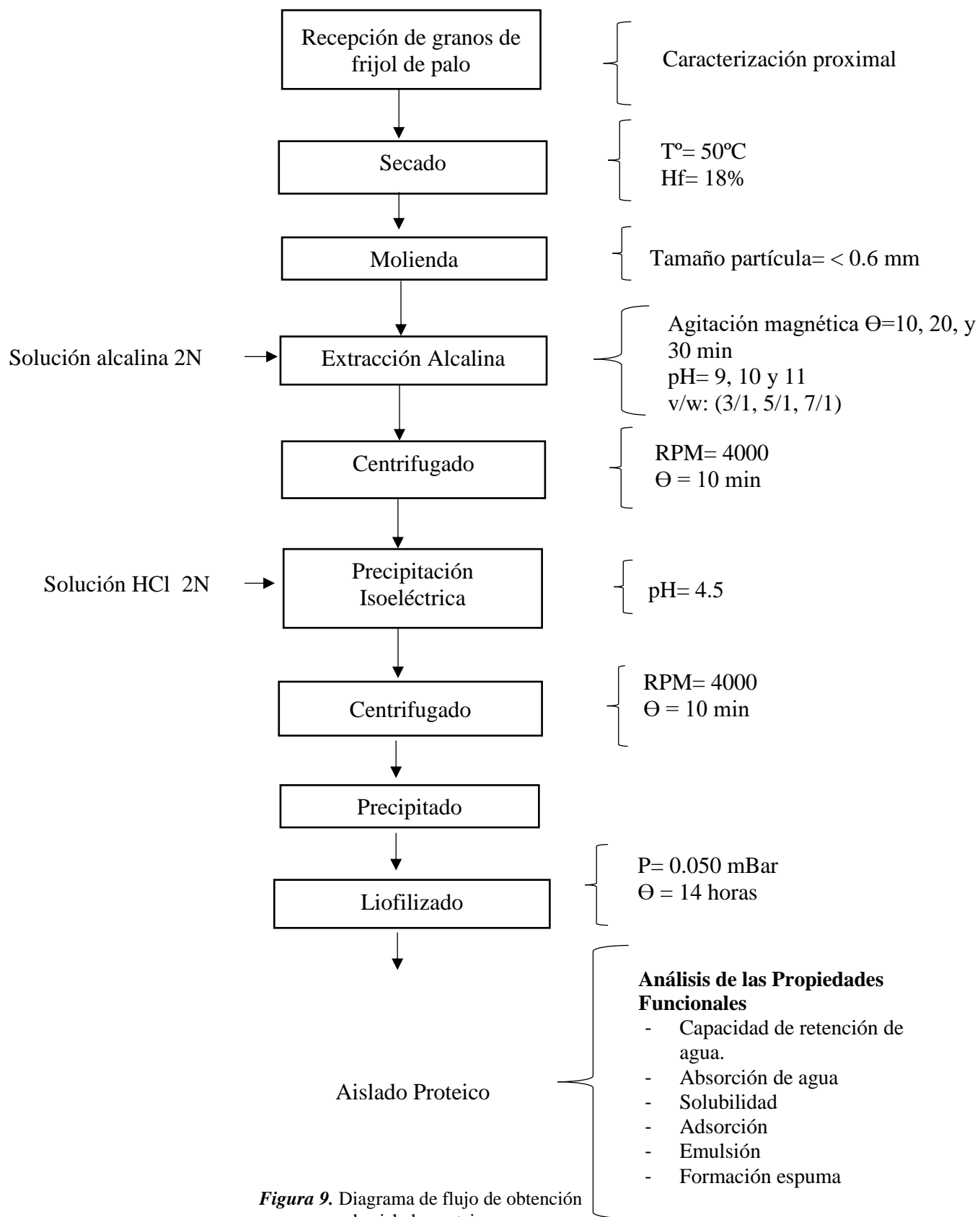


Figura 9. Diagrama de flujo de obtención de aislado proteico

### 2.3.3. Descripción del proceso

1. **Recepción:** Se recibió los granos secos de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) en recipientes de metal previamente lavados del laboratorio de investigación de la Universidad Nacional de San Martín.
2. **Selección y Clasificación:** Se realizó separando los granos que se encuentren con defectos o que estén malogrados y eliminando todo material extraño contenido en los granos como hojas, piedras, pajas, etc.
3. **Lavado:** Se procedió a lavar los granos de frijol de palo con agua con el objetivo de eliminar toda presencia de tierra o polvo que viene consigo.
4. **Secado:** Se realizó el secado en la estufa a una temperatura de 50° C por aproximadamente 20 horas hasta llegar a una humedad final de 18% con la finalidad alargar el tiempo de vida reduciendo la humedad y facilitar la molienda.
5. **Molienda:** Se llevó a cabo en un molino eléctrico hasta llegar a un tamaño de partícula no mayor de 0.6 mm.
6. **Extracción alcalina:** Se realizó suspendiendo 100 g de torta en distintos volúmenes de agua (300, 500 y 700 ml) y ajustando el pH a valores 9, 10 y 11 con solución de NaOH 2N, bajo agitación magnética por 10, 20 y 30 min a 25° C. (Saetae et. al, 2011)
7. **Centrifugado:** El centrifugado se realizó a 4000 revoluciones por minuto por un tiempo de 10 minutos.
8. **Precipitación isoelectrica:** Para la precipitación de las proteínas se adicionó, gota a gota y bajo agitación suave, ácido clorhídrico 2N al filtrado colectado en el paso anterior, hasta alcanzar el punto isoelectrico de las proteínas a 4.5 de pH.
9. **Centrifugado:** Después de la precipitación isoelectrica se procedió a realizar nuevamente el centrifugado con los mismos parámetros, 4000 RPM por 10 min.
10. **Secado:** Finalmente, el aislado de proteínas fue puesto en placas Petri y secado por liofilización, a una presión de 0.050 mBar por aproximadamente 14 horas.
11. **Envasado:** Se envasó en bolsas de poli estireno de 100 gramos cada una.

#### 2.3.4. Análisis químico proximal del aislado proteico obtenido

- Humedad: Método de la AOAC (2005). Método 934.06
- Cenizas: Método de la AOAC (2005). Método 940.26
- Fibra bruta: Método de la AOAC (2005). Método 930.10
- Proteína: Método microkjeldahl, recomendado por la AOAC (2005). Método 920.152
- Grasa: Método de la AOAC (2005). Método 930.09

#### 2.3.5. Análisis de las propiedades funcionales aislado proteico obtenido

El análisis de las propiedades funcionales del aislado proteico fue realizado en los laboratorios de Química de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Las cuales fueron realizadas con las siguientes metodologías:

- **Capacidad de Retención de Agua (CRA)** (Beuchat, 1977). Se preparó una suspensión acuosa del aislado proteico al 10% (p/v), en tubos de centrífuga y cada uno se agitó durante 30 s en un agitador vortex. El pH de cada suspensión se ajustó a un rango de 2-11, luego se agitó por 30 minutos en un agitador a 25 °C. Se centrifugó a 4000 rpm por 15 min. Los tubos de centrífuga se colocaron invertidos por una hora en una estufa a 50 °C, el precipitado se pesó y el sobrenadante fue retenido para determinar la solubilidad de la proteína. La CRA se halló de la siguiente ecuación:

$$CRA = \frac{\text{Agua (g)}}{\text{aislado proteico (g)}}$$

- **Solubilidad (SOL)** (Butt y Batool, 2010). El sobrenadante que se obtuvo al momento de determinar la CRA, fue transferido a una fiola de 100 ml y luego se enrasó con agua destilada. Se determinó el contenido de proteínas solubles por el método de Biuret.
- **Capacidad de Gelificación (CG)** (Coffmann y García, 1977). Se preparó soluciones proteicas de 5, 10,15 y 20 % (p/v). Las soluciones se colocaron en tubos de ensayo y fueron calentadas a 90-95 °C en baño maría por 60 min. Luego fueron enfriados a 4 °C por 60 min. Los tubos fueron agitados para determinar la estabilidad del gel y aquellos conteniendo los geles estables fueron invertidos y dejados a temperatura ambiente por 30 min. Los resultados fueron reportados en términos de la menor

concentración de muestra requerida para que el gel permanezca estable por 30 min a temperatura ambiente.

- **Capacidad de Formación de Espuma (CFE)** (Sosulski et al. 1976). Se preparó soluciones proteicas de 0.5, 0.75 y 1.0% y se ajustó el pH de cada solución a 6,7 y 8, posteriormente se agitó por 5 min en una licuadora a máxima velocidad. Se calculó el porcentaje de volumen incrementado a los 30 s según la siguiente ecuación:

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

- **Capacidad Emulsificante (CE)** (Yasumatsu et al. 1972). Se mezcló 1 g de aislado proteico con 20 ml de agua y se agitó durante 15 min. El pH de la solución proteica se ajustó a 7 y se aforó a 25 ml con agua destilada. Se mezcló los 25 ml de esta solución proteica con 25 ml de aceite de maíz en una licuadora por 3 min y posteriormente se centrifugó a 1300 rpm por 5 min. La CE se expresó en términos de porcentaje como la altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido.
- **Capacidad de Absorción de Aceite (CAA)** (AOAC, 1990). Se mezcló 4 ml de aceite de maíz con 0.5 g del aislado proteico seco en un tubo de centrifuga de 10 ml. La mezcla se dejó reposar durante 30 min a 25 °C y seguidamente se centrifugó (4000 rpm por 25 min) descartándose el sobrenadante. La diferencia del peso del sedimento obtenido y el peso seco inicial proporcionó la cantidad de aceite retenido:

$$CAA(\%) = \frac{\text{Aceite (g)}}{\text{aislado proteico (g)}} \times 100$$

### 2.3.6. Análisis del contenido de aminoácidos la proteína aislada de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)

El perfil de aminoácidos fue realizado en los laboratorios de Calidad Total de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) utilizando los siguientes métodos:

- AOAC 920.7 Cap. 32, Pag. 14, Edición 20, 2016
- Bioquímica Analítica 136, 65-74 1984
- La Molina Calidad Total Laboratorios-006F 2001

## 2.4. Diseño Experimental y Análisis de datos

Se utilizó un diseño al azar experimental de composición central modificado donde los puntos axiales serán los puntos laterales, con tres variables (tiempo de agitación magnética, relación soluto/solvente y pH);  $2^3(2 \times 2 \times 2)$ , con 6 puntos laterales, más cuatro repeticiones en el punto central, con un total de 18 experimentos. Los tratamientos del estudio y la matriz de experimentos se presentan en la tabla 3. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Statistica v.12

**Tabla 3**

*Diseño experimental*

<b>Punto de diseño</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Relación: Soluta/Solvente</b>	<b>pH</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
<b>1</b>	-1 (10)	-1 (3/1)	-1 (9)	11.19
<b>2</b>	-1 (10)	-1 (3/1)	+1 (11)	11.57
<b>3</b>	-1 (10)	+1 (7/1)	-1 (9)	10.04
<b>4</b>	-1 (10)	+1 (7/1)	+1 (11)	16.57
<b>5</b>	+1 (30)	-1 (3/1)	-1 (9)	10.88
<b>6</b>	+1 (30)	-1 (3/1)	+1 (11)	12.545
<b>7</b>	+1 (30)	+1 (7/1)	-1 (9)	11.4
<b>8</b>	+1 (30)	+1 (7/1)	+1 (11)	12.545
<b>9</b>	-1 (10)	0 (5/1)	0 (10)	11.95
<b>10</b>	+1 (30)	0 (5/1)	0 (10)	14.84
<b>11</b>	0 (20)	-1 (3/1)	0 (10)	12.01
<b>12</b>	0 (20)	+1 (7/1)	0 (10)	14.53
<b>13</b>	0 (20)	0 (5/1)	-1 (9)	12.36
<b>14</b>	0 (20)	0 (5/1)	+1 (11)	14.01
<b>15</b>	0 (20)	0 (5/1)	0 (10)	13.135
<b>16</b>	0 (20)	0 (5/1)	0 (10)	13.135
<b>17</b>	0 (20)	0 (5/1)	0 (10)	13.135
<b>18</b>	0 (20)	0 (5/1)	0 (10)	13.135



## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis químicos proximales

La composición proximal de los granos de frijol de palo se presenta en la tabla 4 (ANEXOS C), obteniendo una cantidad de proteína del 19.57 %, valor más cercano al presentado por Akende et al., (2010) que reporta 21.03 % de proteína, esta variación podría deberse a la diferencia entre los suelos en donde crece este frijol de palo, factores ambientales o diferencia entre variedades. Otros estudios sobre la composición química de los granos de frijol de palo determinaron un contenido de proteínas del 20 al 22% (Torres et al., 2006). El contenido de fibra (8.20%) es muy similar al reportado por Butt y Batoool (2010) que indica que el frijol de palo presenta 8.19% de fibra cruda.

**Tabla 4**

*Análisis químico proximal del grano de frijol de palo (Cajanus cajan L.)*

Componente	Resultado
Humedad	10
Cenizas totales	4.98
Proteína	19.57
Grasa cruda	5.8
Fibra	8.20
Carbohidratos	51.45

La composición proximal del aislado proteico obtenido se presenta en la tabla 5 (ANEXOS D), obteniendo una cantidad de proteína de 67%, un valor relativamente bajo a comparación de aislados proteicos de otros productos como por ejemplo de piñón que reporta 79.34% de proteína según Fasanando (2012) y de sachá inchi que su valor es aún mucho más alto, 92.15% de proteína (Mercado, Elías, Pascual, 2014). El contenido de fibra del aislado proteico de frijol de palo (*Cajanus Cajan L.*) presenta un valor de 0.32% y es menor al reportado por Mercado, Elías, Pascual (2014) para aislado proteico de sachá inchi que presenta un valor de 0.50%. Estos resultados pueden atribuirse a que durante la extracción se pueden arrastrar otros componentes como grasa, ceniza y carbohidratos solubles.

**Tabla 5***Análisis químico proximal del aislado proteico obtenido*

Componente	Resultado
Humedad	6.9
Cenizas Totales	4.8
Proteína	67
Grasa cruda	5.24
Fibra	0.32
Carbohidratos	16.06

### 3.2. Análisis de las Propiedades Funcionales

Se evaluó las propiedades funcionales del aislado proteico obtenido a partir de frijol de palo (*Cajanus Cajan* L.) las cuales se presentan en la Tabla 6 (ANEXOS E), donde se puede observar que la capacidad de retención de agua tiene un valor de 1.45 g agua/g aislado proteico, menor al de sachá inchi (1.84 g agua/g aislado proteico) reportado por Mercado, Elías, Pascual (2014), la capacidad de retención de agua tiene una relación directa con el contenido de aminoácidos polares presentes (Yusuf et al. 2008) en la proteína, lo que indica que el aislado proteico de frijol de palo tiene menor número de aminoácidos polares que el aislado proteico de sachá inchi. En cuanto a la solubilidad, el aislado proteico presentó una máxima solubilidad (90%) a pH 11 y una mínima solubilidad (15%) a pH 6; estos resultados vienen a ser muy similares a los presentados por Mercado, Elías, Pascual (2014) para el aislado proteico de sachá inchi donde también obtuvo la máxima (99.4%) y mínima (18.7%) solubilidad a pH 6 y 11; este resultado que es menor a la solubilidad de sachá inchi podría atribuirse a su menor composición de aminoácidos polares (Padilla et al. 1996). Para que el aislado proteico de frijol de palo forme un gel estable se necesitó de una concentración del 10% mientras que el aislado proteico de sachá inchi necesitó el 15% (Mercado, Elías, Pascual 2014). La concentración mínima para gelificar proteínas de distintas leguminosas oscila entre 12 a 14% (Mashair et al. 2006); de todas formas el aislado proteico de frijol de palo mostró una baja capacidad de gelificación y baja capacidad de retención de agua, lo que está de acuerdo con trabajos realizados anteriormente que mencionan que la capacidad de gelificación y la capacidad de retención de agua están directamente relacionadas (Wilton et al. 1997).

En lo que respecta a la capacidad de formación de espuma se obtuvo 20% a 0.75% de concentración, menor al valor obtenido por Mercado, Elías, Pascual, (2014) que obtuvo una capacidad de formación de espuma de aislado proteico de sachá inchi del 50% a 1% de concentración. La capacidad emulsificante arrojó un resultado de 50% a 1% de concentración, siendo este valor relativamente cercano al reportado por Mercado, Elías, Pascual (2014) para el sachá inchi que fue de 59.1%, esta diferencia puede suponer la menor presencia de grupos no polares en la cadena de proteínas (Padilla et al., 1996) del frijol de palo con respecto al sachá inchi. La capacidad de absorción de aceite (1.20 g aceite/g aislado proteico) un valor ligeramente bajo a comparación de lo reportado por Mercado, Elías, Pascual, (2014) para el sachá inchi (1.39 g aceite/g aislado proteico). La cadena de proteínas que tiene un elevado número de terminales no polares contribuye a incrementar la capacidad de absorción de aceite (Fernández- Quintela, et al. 1997), lo que indica que la cadena de la proteína de frijol de palo tiene un menor número de terminales no polares debido a su menor capacidad de absorción de aceite con respecto a la proteína de sachá inchi.

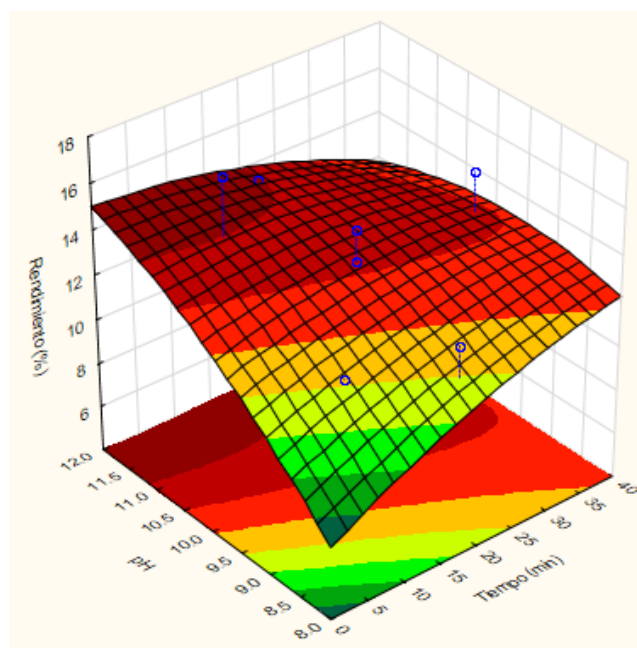
**Tabla 6**

*Propiedades funcionales del aislado proteico obtenido*

Propiedad	Resultado
Capacidad de retención de agua/g	1.45
Solubilidad máxima a pH 11 (%)	90
Solubilidad mínima a pH 6 (%)	15
Capacidad de gelificación (%)	10
Capacidad de formación de espuma (0.75%)	20
Capacidad de emulsificación (1%)	50
Capacidad de absorción de aceite g/g	1.20

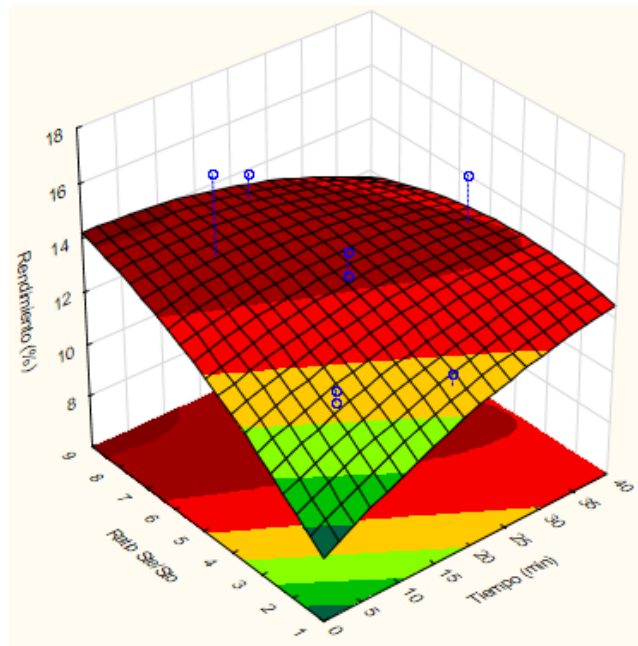
### 3.3. Optimización de los procesos

La *figura 10*, muestra el efecto pH y el tiempo con respecto al rendimiento de extracción obtenido de aislado proteico de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.), se observa que mayor rendimiento de extracción se obtiene cuando se alcanza valores de pH entre 10 y 11. Esta información obtenida podemos corroborar con lo mencionado por Zevallos, Gutiérrez y Pretel (2014) que indica que se obtiene mayor concentración de proteína al extraer con valores elevados de pH ya que estas tienen mayor solubilidad a pH elevados.



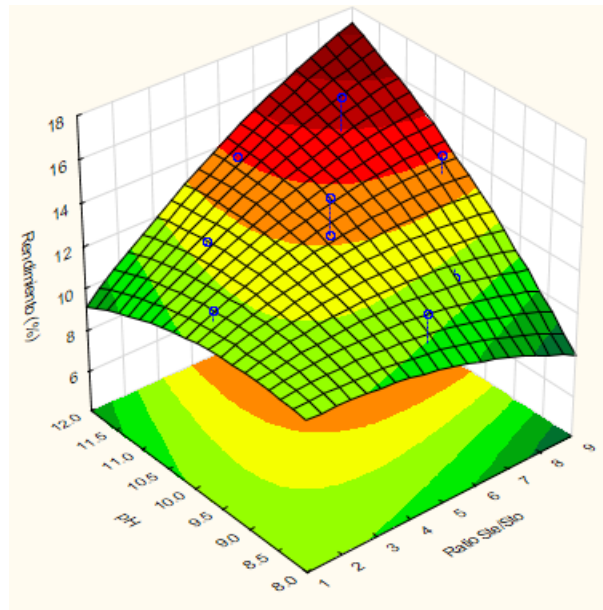
**Figura 10.** Influencia del pH y el tiempo (min) en el rendimiento (%) de la extracción de proteínas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)

En la *figura 11*, se observa el efecto del tiempo en el rendimiento de proteína extraída de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) la cual indica que la influencia del tiempo se mantiene estándar, es decir, que la variación del tiempo no influye significativamente en el rendimiento, información que se puede contrastar con Mercado, Elías, Pascual (2014) que indica que se obtiene mayor solubilidad de las proteínas en tiempos comprendidos entre 10 y 40 min.



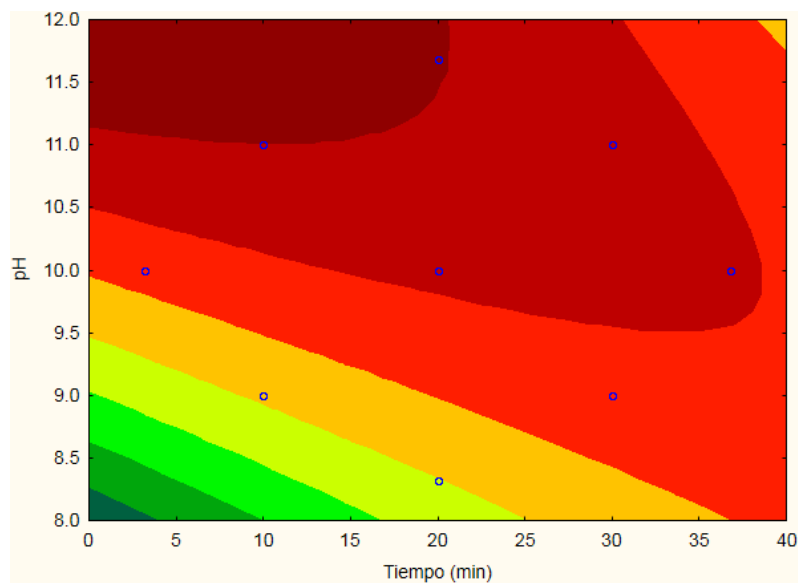
**Figura 11.** Influencia del tiempo (min) y la relación solvente/soluto en el rendimiento de la extracción de proteínas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)

En la *figura 12* se observa que el mayor rendimiento de proteína extraída se obtiene cuando se trabaja con relaciones soluto/solvente altos, para el caso de este trabajo corresponde a la relación de 7/1 el mayor valor de relación empleado en la extracción, y se observa también que el efecto del tiempo en la extracción no varía con respecto a la *figura 10*, indicando que el efecto del tiempo se mantiene constante entre los valores trabajados. Esta información concuerda a lo obtenido por Gonçalves et al., (2006) que indica que obtuvo mayor contenido proteico con una relación solvente/soluto alta que con una baja.



**Figura 12.** Influencia del pH y la relación soluto/solvente en el rendimiento de la extracción de proteínas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.)

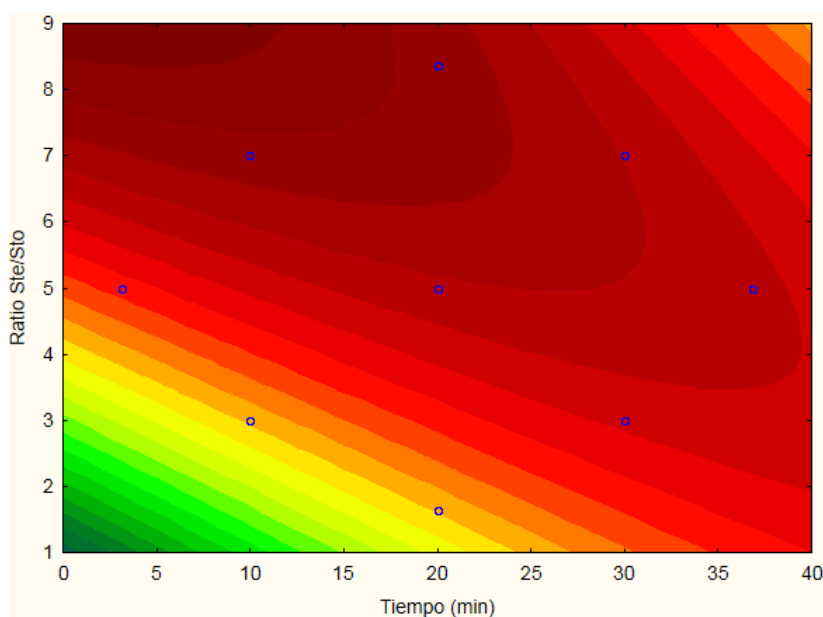
En la *figura 13* se muestra mediante una gráfica de contornos que se obtuvo mayor rendimiento en la extracción de proteínas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) trabajando con valores elevados de pH, tal como se muestra en la *figura 10*, mejores rendimientos se obtiene con valores de pH entre 10 y pH 11, se observa también que no existe diferencia significativa entre los intervalos de tiempo.



**Figura 13.** Gráfica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) vs pH, tiempo (min).

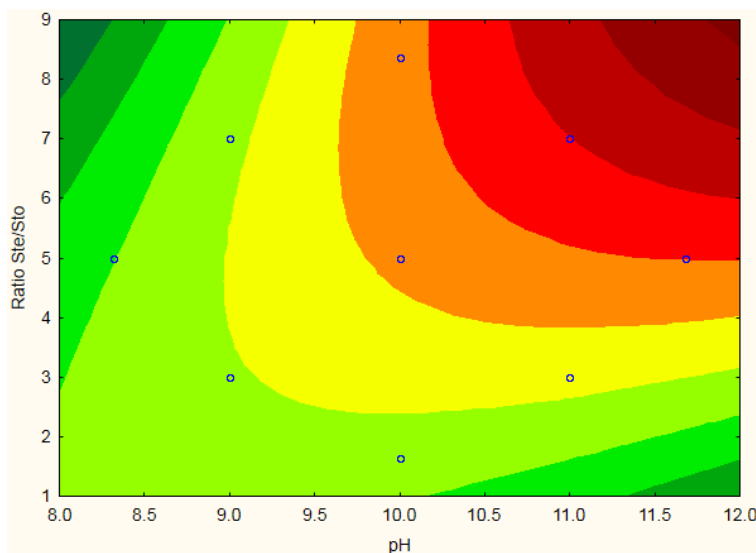
En

la *figura 14*, mediante una gráfica de contorno se muestra que se obtiene valores de rendimiento de proteína casi constantes trabajando con valores de tiempo comprendidos entre 10 y 30 min y relaciones solvente/soluto elevados que en valores reales corresponde a la relación 7/1.



**Figura 14.** Gráfica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) vs tiempo (min), relación solvente/soluto.

En la *figura 15* podemos observar que mayor el rendimiento de proteína se obtuvo al trabajar con valores elevados de relación solvente/soluto, así como también se observa que a partir de los valores de pH 10 se va obteniendo mayor rendimiento teniendo como óptimo pH 11 donde se obtuvo mayor solubilidad de proteínas tal y como lo indica también Mercado, Elías, Pascual (2014) que a pH 11 obtuvo mayor concentración de proteínas de sachá inchi.



**Figura 15.** Gráfica de contorno del rendimiento de extracción de proteína de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) vs relación soluto/solvente, pH.

### 3.4. Contenido de aminoácidos y score proteico

El perfil de aminoácidos del aislado proteico de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) son presentadas en la tabla 7 (ANEXOS F), las cuales fueron obtenidas del tratamiento número 4 que presentó mayor rendimiento en la extracción, junto con las necesidades de aminoácidos en diferentes grupos de edad según FAO/OMS/UNU (1985). Se puede observar que el aislado proteico conservan la tendencia de la mayoría de las leguminosas, siendo deficientes en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) (Marrugo-Ligardo, 2016).

Por otra parte, el concentrado proteico de frijol de palo satisface las necesidades de aminoácidos esenciales sólo de adultos, más no de pre escolares y escolares siendo el aminoácido limitante el grupo de azufrados.



**Tabla 7**

*Perfil de aminoácidos del aislado proteico de frijol de palo (Cajanus Cajan L.).*

<b>Ensayos</b>	<b>Promedio (g/100 g de muestra original)</b>	<b>Aislado proteico de frijol de palo (mg/ g de proteína)</b>	<b>Pre- Escolares (2-5 años) (FAO/OMS 1985)</b>	<b>Escolares (FAO/OMS 1985)</b>	<b>Adultos (FAO/OMS 1985)</b>	<b>Score Proteico</b>
Ácido aspártico	0.98	15.15	-	-	-	-
Ácido glutámico	1.66	25.66	-	-	-	-
Serina	0.52	8.04	-	-	-	-
Glicina	0.35	5.41	-	-	-	-
Histidina	0.39	6.03	19	19	16	0.32
Treonina	0.37	5.72	34	28	9	0.20
Alanina	0.30	4.64	-	-	-	-
Arginina	1.01	15.61	-	-	-	-
Prolina	0.44	6.80	-	-	-	-
Valina	0.46	7.11	35	25	13	0.28
Metionina + Cisteína	0.22	3.40	25	22	17	0.15
Isoleucina	1.06	16.38	28	28	13	0.59
Leucina	1.07	19.54	66	44	19	0.38
Fenilalanina +Tirosina	1.99	30.76	63	22	19	1.40
Lisina	1.25	19.32	58	44	16	0.44
Triptófano	0.39	6.03	11	9	5	0.67

Para corregir el score proteico por la digestibilidad de la proteína debe ser calculado multiplicando la relación de aminoácido más baja por la digestibilidad verdadera de la proteína. Aquí el cómputo es expresado en decimales, pero puede ser expresado en términos porcentuales. En el caso del aislado de frijol de palo la relación más baja de aminoácidos corresponde al grupo de azufrados (0.15) y la digestibilidad verdadera de la proteína de poroto es de 82%, el cómputo corregido por la digestibilidad de la proteína será 12.3%.

## CONCLUSIONES

- Se obtuvo un aislado proteico a partir de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) optimizando los procesos por medio de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica.
- Los granos secos de frijoles de palo (*Cajanus cajan* L.) en la caracterización proximal presentó un porcentaje de proteína de 19.57%, 51.45% de carbohidratos, 8.20% de fibra cruda, grasa cruda 5.8%, cenizas 4.98%.
- El aislado proteico obtenido de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) en la caracterización proximal presentó un porcentaje de proteína de 67%, 16.06% de carbohidratos, 0.32% de fibra cruda, grasa cruda 5.24%, cenizas 4.8%.
- El mejor tratamiento para la extracción de las proteínas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) fue el tratamiento número 4 que fue realizado a pH 11 por un tiempo de agitación de 10 minutos y una relación solvente/soluto de 7/1, obteniendo un rendimiento en peso de 16.57%, donde el tiempo es de 10 minutos ya que el rendimiento se mantiene casi constante trabajando a cualquiera de los tiempos utilizados.
- Se determinó el perfil aminoacídico de la proteína aislada de frijol de palo (*Cajanus cajan* L.) los cuales satisfacen las necesidades de aminoácidos de un adulto teniendo como limitante al grupo de aminoácidos azufrados (Metionina + Cisteína).
- El score proteico calculado a partir del aminoácido más limitante dio como resultado un valor de 0.15 (15%) y la corrección por su digestibilidad verdadera un valor de 12.3%.

## RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio para la elaboración de biopelículas a partir de proteínas aisladas de frijol de palo (*Cajanus cajan* L) y evaluar sus propiedades.
- Tener en consideración el periodo de almacenaje y fecha de vencimiento de los reactivos a utilizar para la extracción de las proteínas.
- Realizar un estudio de pre factibilidad para una planta de procesamiento de aislado proteico de frijol de palo (*Cajanus cajan* L).
- Realizar estudios para los posibles usos como complemento nutricional en diferentes productos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adebowale, K. y Lawal, O. Foaming. (2003). Gelation and Electrophoretic Characteristics of Mucuna Bean (*Mucuna pruriens*) Protein Concentrates. *Food Chem.* 83: 237-246.
- Akende, K., Abubakar, M., Adegbola, T., & Bogoro, S. a. (2010). Chemical evaluation of the nutritive quality of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) . *Internacional journal of poultry science*, 9(1), p 63-65.
- Akoja, S.S. y Mohammed, A.O. (2011). Evaluation of the proximate, pasting and sensory characteristics of cassava flour (Fufu) fortified with pigeon pea flour. *Pakistan journal of nutrition*, 10829, p. 124-128.
- Añón, M. C.; Genovese, M.; Jovanovich, G.; Lajolo, F.; Martínez, E. y Pilosof, A. (2000). *Caracterización Funcional y Estructural de Proteínas*, Editorial Universitaria de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC USA 684.
- Arias Cubas, M., Barrera Mercado, B., & Rodriguez Ayala, J. (2010). Uso de diferentes niveles de harina de semilla de gandul (*Cajanus cajan*) como suplemento en la alimentacion de pollo de engorde. Universidad de El Salvador.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* . México : Cuarta edición Pearson Educación, 736 p.
- Barahona, M. (2005). *Uso de leguminosas tropicales en la alimentacion animal* (En línea). Consultado en Junio de 2016. Disponible en: <http://www.cidicco.hn/folletoleguminosas.htm>.
- Beuchat, R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 25: 258-261.
- Bienvenue, A., Jiménez-Flores, R., y Singh, H. (2003). Rheological properties of concentrated skim milk: influence of heat treatment and genetic variants on the changes in viscosity during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:6488-6494.
- Butt, M. and Batool (2010). Nutritional and functional properties of some promising legumes protein isolates. *Pakistan Journal of Nutrition* p. 373-379.

- Campbell, J. A. (1999) PAG (WHO/FAO/UNICEF) Methodology of Protein Evaluation. A. Critical Appraisal of Methods for Evaluation of Protein in Foods. Nutrition Document R.6/Add.1, Reunión en Ginebra, Agosto.
- Cazabonne, C. (2009). El quinchoncho (*Cajanus indicus* o *Cajanus cajan*). Consultado en junio de 2016. Disponible en: [www.freshplaza.es/newsdetail.asp?id=19286](http://www.freshplaza.es/newsdetail.asp?id=19286).
- Cedano, J. (2006). Guía tècnica cultivo del Guandul. Santo Domingo, República Dominicana: CEDAF, 84 p.
- Coffmann, C. W. and García, V. V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science & Technology* 12(5): 473-484.
- Corriher, V.A., Hill, G.M., Bernard, J.K., Jenkins, T.C., West, J.W. and Mullinix, B.G. (2010). Pigeon peas as a supplement for lactating dairy cows fed corn silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, 93(11), p. 5309-5317.
- Curare. (2006). Pèptidos de Girasol: Antecedente a los hidrolizados proteicos (En línea). Consultado en Julio de 2016. Disponible en: <http://curare.com/Proteina%20Vegetal.htm>.
- Damodaran, S. y Paraf, A. (1997). Food proteins and their applications. Marcel Dekker. U.S.A. pp. 1-24.
- Damodaran, S. (2000). En Fennema, O. (Ed.) Food Chemistry. Marcel Dekker. pp. 321-429.
- Dauphas, S., Mouhous-Riou, N., Metro, B., Mackie, A. R., Wilde, P. J., Anton, M., Riaublanc, A. (2005). The supramolecular organization of b-casein: effect on interfacial properties. *Food Hydrocolloids* 19:387-393.
- ECHO, P. I. (2015). Gandul Pigeon Pea. Consultado en julio del 2016. Disponible en: <https://www.echocommunity.org/es/resources/81d5fd86-74e7-41c9-af1e-a8da7a265bd2.pdf>.
- Etonihu, A., & Ayodele, J. a. (2009). Proximate and amino acid compositions of wheat species of pigeon pea grown in Kogi state. Nigeria: *Nigerian Journal of biochemistry and molecular biology*, p.32-36.
- Fasanando, J. (2012). Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de torta desengrasada de piñon blanco (*Jatropha curcas* L.). Tarapoto, Perú.

- Fernandez-Quintela, A.; Macarulla, M. T.; Del Barrio, A. S. and Martínez, J. A. (1997). Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. *Plant Foods for Human Nutrition* 51: 331–342.
- Fligner, K. L. y Mangino, M. E. (1991). “Relationship of Composition to Protein Functionality”. En *Interactions of Food Proteins*, ACS Symp. Ser. (Parris y Barford Eds.) USA. 300 pp.
- Gaviria, E. (2013). Metodología de superficie de respuesta en la optimización de la hidrólisis enzimática de proteínas en semillas de guandul (*Cajanus cajan*): propiedades tecnofuncionales de hidrolizado (Tesis de Pregrado). Popayán, Colombia. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la educación, p.10-20.
- Gepts, P., Beavis, W., Brummer, C., Shoemaker, R., Stalker, T., Weeden, N. y Young, N. (2004). Legumes as a model plant family. *Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference*. *Plant Physiol.* 137, pp. 1228-1235.
- Giese, J. (1994). Proteins as Ingredients: Types, Functions, Applications. *Food Tech.* 50-60.
- Gonçalves J. Vioque, A. Clemente, R. Sánchez-Vioque, J. Bautista y F. Millán. (2006). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza, Departamento de Fisiología y Tecnología de Productos Vegetales. Instituto de la Grasa, C.S.I.C. Apdo. 1078, 41012 - Sevilla, España.
- Gonzales, M. (1999). Caracterización fisicoquímica y valoración nutricional y funcional de un aislado proteico obtenido de la semilla de èbano (*pithecellobium flexicaule*). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, División de estudios de postgrado.
- Graham, P. y Vance, C. (2003). Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131, pp. 872-877.
- Gueguen J. y Cerletti P. (1994). Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin. In Hudson, B.J. F. Editor. *New and developing sources of food proteins*. 1st ed. Chapman & Hall, Great Britain; pp. 145-183.
- Granito, M. y Ascanio, V. (2009). Desarrollo y transferencia tecnológica de pastas funcionales extendidas con leguminosas. *Archivos Latino Americanos de Nutrición*, 59(1), p. 71-77.

- Hayase, F., Kato, H. y Fujimaki, M. (2003). Racemization of amino acid residues in proteins during roasting. *Agric. Biol. Chem.* 37:191-192.
- Hettiarachchy, N. S.; Griffin, V. K.; Gnanasambandam, R. (1996) Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ. *Cereal Chem.* 73: (3), pp. 364-367.
- Iheukwumere, F.C., Onyekwerw, M.U. and Egu, U.E. Growth. (2008). Carcass and Reproductive Characteristics of Male Rabbits (Bucks) Fed Raw and Boiled Pigeon Pea Seed (*Cajanus cajan*) Meal. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1), p. 17-20.
- Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. (2005). Tabla de composición de los alimentos colombianos. Bogotá, Colombia.
- Jayadeep, P., & Sashikala, V. a. (2009). Nutrients and certain lipip soluble bioactive components in dehusked whole grains (gota) and dehusked splits (dhal) from pigeon pea (*Cajanus cajan*) and their cooking characteristics. *International Journal or Food Sciences and Nutrition*, p.273-284.
- Jorge L. Mercado R., Carlos C. A. Elías P., Gloria J. Pascual C. (2014). Obtención de un aislado proteico de torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y evaluación de sus propiedades funcionales, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú.
- Kilara, A. and Sharkasi, T. Y. (1986) "Efiects of temperature on food proteins and its implications on functional properties", *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 23(4): 323-394.
- Kinsella, J.E. (2002). Functional properties of food proteins: A review. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7:219-280.
- Lakemond C. M. M., De Jongh H.H.J., Hessing M. Gruppen H., y Voragen A. G. J. (2000 a). heat denaturation of soy glicinin: influence of ph and ionic strength on molecular structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48 (6) 1991-1995.
- Lakemond, C. M. M., De Jongh, H. H. J., Hessing, M., Gruppen, H., and Voragen, A. G. J. (2000 b). soy glicinin: influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures. *J. Agric Food Chem.* 48 (6), 1985-1990.
- Lapanje, S. (2005). *Physicochemical Aspects of Protein Denaturation*, Wiley-Intercience, Nueva York.
- Larsen, C. (2003). Animal source foods and human health during evolution. *J. Nutr*, 3893S-3897S.

- López, G., Flores, I. Gálvez, A. Quirasco, M. y Farrés A. (2003). Development of a liquid nutritional supplement using a *Sesamun indicum* L. protein insolate Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie. Lebensm. Wiss. Technol. 36:67-74. 3003.
- Malezas de México, Veracruz (2006). Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Recuperado de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/fabaceae/cajanus-cajan/fichas/datos-fotos.htm>.
- Mashair, S.; Abdullahi, E. T.; Abd, E.; Elfadil, B. and Elhadi, E. (2006). Solubility as influenced by pH and NaCl Concentration and functional properties of lentil proteins.
- Mazurek, J., Holbert, L., Parrish, M. K. y Salehi, E., (2005). Raw eggs-lessons learned from an outbreak of *Salmonella* serotype *enteritidis* infections associated with meringue pie. J. Public Health Manag Pract 11(3), pp. 201-207.
- McClemens, D. J. (1999). Food emulsions: principles, practice and techniques. Washington: CRC Press.
- Millward, D.J. (2012). Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. Br. J. of Nutr. 108(2): 31-43.
- Moughan, P. J. (2005). Dietary protein quality in humans—an overview. J. AOAC Int. 88 (3):874-876.
- Moyano, S., Moreno, T. y Cubero, J.L. (2008). Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Madrid (España): Mundi-prensa, 318 p.
- Nio, N., Motoki, M., y Takinami K. (2007). Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase. J. Agric. Biol. Chem. 50:851-855.
- Owen R. Fennema. (2000). Química de los Alimentos. Universidad de Winsconsin, Madison, 2da Edición.
- Padilla, F. C.; Alvarez, M.,T. and Alfaro, M. J. (1996). Functional properties of Barinas nut flour (*Caryodendron orinocense* Karst. Euphorbiaceae) compared to those of soybean. Food Chemistry 57:191-196.
- Pasolac, P. (2000). Lombricultura, una alternativa para pequeños agricultores en laderas. El Salvador: Revista Centroamericana Laderas.
- Praderes, G. G. (2009). Caracterización fisicoquímica y propiedades funcionales de harina de quinchoncho (*Cajanus cajan*) obtenida por secado en doble tambor rotatorio. Revista Facultad de Agronomía, p. 79-84.



- Rachapudi, V. a. (2015). Dynamics of vegetative and reproductive growth patterns in Pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) grown under elevated CO<sub>2</sub>. *Procedia Environmental Sciences*, p. 147-148.
- Renkema, J. M. S., Catriona, M. M., Lakemond, H. De Jongh, H. J., Gruppen, H. Vliet, T. V. (2000). The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *J. Biotechnol*, (79):223-230.
- Roma, A. A., Prayson, R. A., (2005). Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: how safe is eating beef, *Cleve Clin J Med*. Marzo; 72(3):185-6, 189-90, 192-194.
- Saetae D, Kleekayai T., Jayasena V. and Suntornsuk W. (2011). Functional Properties of Protein Isolate Obtained from Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) Seed Cake. *Food Science and Biotechnology*. Volume 20, Number 1, 29 – 37, DOI: 10.1007/s10068-011-0005-x.
- Saladin, F. (1990). Cultivo del Guandul, Fundación de Desarrollo Agropecuario. Santo Domingo, República Dominicana.
- Santhanam, S. a. (2014). Field evaluation of a botanical formulation from the milky mangrove *Excoecaria agallocha* L. against *Helicoverpa armigera* Hubner. In *Abelmoschus esculentus* and *Cajanus cajan* (Pigeon pea). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.
- Sarwar, G. y McDonough, F. E. (1990) Evaluation of Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method for Assessing Protein Quality of Foods. *J. AOAC Intl* 73 (3):347.
- Saxena, K.B., Kumar, R.V. and Sultana, R. (2010). Quality nutrition through pigeon pea: a review. *Health*, 2(11), p. 1335-1344.
- Schmidt-Hebbel, (1981). *Avances en ciencia y tecnología de los alimentos*.
- Shewry, P. R., Franklin J., Parmar, S., Smith S. J. y Mifflin B. J. (2008). The effects of sulphur starvation on the amino acid and protein compositions of barley grain. *J. Cereal Sci.*, 1:21-31.
- Silva, R.L., Araujo, G., Socorro, E., Oliveira, R., Garces, A. e Bagaldo, A. (2009). Níveis de farelo de melancia forrageira em dietas para ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(6), p. 1142-1148.
- Skerman, P. C. (1991). *Leguminosas tropicales*. Roma, FAO. p. 575-583.

- Sosulski, F. W.; Humbert, E. S.; Bui, K, and Jones, J. O. (1976). Functional properties of rapeseed flour concentrates and isolates. *Journal of Food Science* 41:1348-1354.
- Tay, S. L., Guo, Q. X., Conrad, O. P. (2005). Aggregation profile of 11 S, 7S and 2S coagulated with GDL. *Food Chem.* 91(3); 457-462.
- Tiwari, B.K., Brennan, C.S., Jaganmohan, R. and Alagusundaram, K. (2011). Utilization of pigeon pea (*Cajanus cajan* L) byproducts in biscuit manufacture. *LWT – Food Science and Technology*, 44, p. 1533-1537.
- Torres, A. (2001). Estudio comparativo de harinas de caraotas blancas y quinchonchos con y sin càscara y su incorporacion en mezclas para elaborar un producto de consumo masivo. Caracas, Venezuela.
- Torres, A. F. (2007). Germinated *Cajanus cajan* seeds as ingredients in pasta products: Chemical, biologicas and sensory evaluation. . *Food Chemistry*.
- Torres, A. Frias, J., Granito, M. and Vidal, C. (2006) Germinated *Cajanus cajan* seeds as ingredients in pasta products: Chemical, biological and sensory evaluation. *Food chemistry*, 101, p. 202-211.
- Ulrike, B. (1997). Manual de leguminosas de Nicaragua. . Estela, Nicaragua: Tomo I, primera ediciòn PASOLAC, EAGA.
- Vioque, J. S. (2001). Obtenciòn y aplicaciòn de concentrados y aislados proteicos. *Grasas y aceites*.
- Wilton, P.; Larry, R.; Beuchat, K. and Dixon, P. (1997). Functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) flour as affected by soaking, boiling and fungal fermentation. *Journal of Food and Science* 45: 480-486.
- Whiteman, P.C. and Norton, B.W. (1981). Alternative uses for pigeon pea. ICRISAT (International Crops research Institute For the Semi-Arid Tropics). Proceedings of the International Workshop on Pigeon Pea, p. 365-377.
- Yasumatsu, K.; Sawada, K.; Moritaka, S.; Misaki, M.; Toda, J.; Wada, T. and Ishii, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soyabean products. *Agric. Biol. Chem* 36: 719-728.
- Yesid A. Marrugo-Ligardo. (2016). Evaluaciòn Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias de la Salud.

Yusuf, A.; Ayedun, H. and Sanni, L. (2008). Chemical composition and functional properties of raw and roasted Nigerian benniseed (*Sesamum indicum*) and Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *Food Chemistry* 111(2): 277-282.

Zevallos, A.; Gutiérrez, A.; Pretel, C. (2014). Efecto del pH de extracción y caracterización funcional de proteínas de ñuña (*Phaseolus vulgaris* L). Universidad Privada Antenor Orrego.

## ANEXOS

**Anexo A.** ANOVA de los datos experimentales correspondientes a la extracción de proteínas.

FACTORES	SUMA DE CUADRADOS (SS)	GRADOS DE LIBERTAD (df)	CUADRADO MEDIA (MS)	F-VALOR	p
(1) Tiempo (min)(L)	0.59910	1	0.59910	0.297561	0.600290
Tiempo (min)(Q)	0.35643	1	0.35643	0.177033	0.685011
(2) Ratio Ste/Sto(L)	5.42582	1	5.42582	2.694911	0.139296
Ratio Ste/Sto (Q)	0.56881	1	0.56881	0.282520	0.609492
(3) pH (L)	11.43191	1	11.43191	5.678030	0.044347
pH (Q)	0.74146	1	0.74146	0.368269	0.560773
Tiempo vs Ratio Ste/Sto	1.38611	1	1.38611	0.688458	0.430751
Tiempo vs pH	2.10125	1	2.10125	1.043654	0.336870
Ratio Ste/Sto vs pH	3.96211	1	3.96211	1.967911	0.198266
Error	16.10687	8	2.01336		
Total SS	42.20763	17			

**ANEXO B.** Estimaciones de efecto de los datos experimentales correspondientes a la extracción de proteínas.

<b>Factor</b>	<b>Efecto</b>	<b>Std.Err.</b>	<b>T(8)</b>	<b>p</b>	<b>-95.% Cnf.Limt</b>	<b>+95.% Cnf.Limt</b>	<b>Coeff.</b>	<b>Std.Err. Coeff.</b>	<b>-95.% Cnf.Limt</b>	<b>+95.% Cnf.Limt</b>
Mean/Interc.	13.19305	0.708422	18.62314	0.000000	11.55943	14.82668	13.19305	0.708422	11.55943	14.82668
(1)Tiempo (min)(L)	0.41889	0.767919	0.54549	0.600290	-1.35193	2.18972	0.20945	0.383959	-0.67597	1.09486
Tiempo (min)(Q)	-0.33573	0.797921	-0.42075	0.685011	-2.17574	1.50428	-0.16786	0.398960	-1.08787	0.75214
(2)Ratio Ste/Sto(L)	1.26063	0.767919	1.64162	0.139296	-0.51019	3.03145	0.63031	0.383959	-0.25510	1.51573
Ratio Ste/Sto(Q)	-0.42412	0.797921	-0.53153	0.609492	-2.26412	1.41589	-0.21206	0.398960	-1.13206	0.70795
(3)pH (L)	1.82984	0.767919	2.38286	0.044347	0.05902	3.60067	0.91492	0.383959	0.02951	1.80033
pH (Q)	-0.48422	0.797921	-0.60685	0.560773	-2.32423	1.35579	-0.24211	0.398960	-1.16211	0.67789
1L by 2L	-0.83250	1.003334	-0.82973	0.430751	-3.14619	1.48119	-0.41625	0.501667	-1.57310	0.74060
1L by 3L	-1.02500	1.003334	-1.02159	0.336870	-3.33869	1.28869	-0.51250	0.501667	-1.66935	0.64435
2L by 3L	1.40750	1.003334	1.40282	0.198266	-0.90619	3.72119	0.70375	0.501667	-0.45310	1.86060



**INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES**

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONIA PERUANA  
CERTIFICADO INDECOPI Nº 00072183

**LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS**

**REPORTE DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**

Nº SOLICITUD : AA019-19  
SOLICITANTE : GABRIELA ALIAGA FLORES  
PROCEDENCIA : SAN MARTIN - SAN MARTIN - TARAPOTO  
ALIMENTO : FREJOL DE PALO (Cajanus Cajan L)

FECHA DE MUESTREO : 21/02/2019  
FECHA DE RECEP. LAB : 21/02/2019  
FECHA DE REPORTE : 12/03/2019

Item	Número de Muestra		pH	Humedad		Acetif. & gras		Cenizas		Proteína		Fibra	
	Laboratorio	Usuario		%	%	%	%	%	%	%	%		
01	19 02	0136	MUESTRA-1	6.3	10.0	5.8	4.98	19.57	8.20				

**MÉTODOS:**

- HUMEDAD : Gravimetría a 105 °C
- ACEITES & GRASAS : Extracción según Soxhlet (n-Hexano)
- FIBRA : Digestión ácido-básico, gravimetría
- CENIZA : Calcinación, gravimetría
- PROTEÍNA : Kjeldhal (factor: 6.25)
- ACIDEZ : Volumetría
- CARBOHIDRATOS : Calculo
- ENERGÍA METABÓLICA : Calculo

*Nota:* el laboratorio no se responsabiliza por la metodología utilizada en el muestreo

La Banda de Shilcayo, 12 de Marzo del 2019

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES  
TARAPOTO - PERU

Cesar O. Arévalo Hernández, MSc  
JEFE DE DPTO. DE SUELOS

## ANEXO D.



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



**INFORME DE ENSAYOS**  
**LASAQ N°26-2018-DQ**


SOLICITANTE : Gabriela del Pilar Aliaga Flores  
 PRODUCTO DECLARADO : Proteína Liofilizada  
 NÚMERO DE MUESTRAS : 01  
 CANTIDAD RECIBIDA : 20 g  
 MARCA : sin marca  
 FORMA DE PRESENTACIÓN : En bolsa de plástico  
 MUESTREADO POR : Muestra proporcionada por el solicitante.  
 FECHA DE RECEPCIÓN : 12 de setiembre del 2018  
 FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO: 26 de setiembre del 2018  
 ENSAYOS SOLICITADOS : ANÁLISIS PROXIMAL

ENSAYO	RESULTADO
1.- Humedad (g/100g de muestra original)	6.9
2.- Cenizas Totales (g/100g de muestra original)	4.8
3.- Grasa Cruda (g/100g de muestra original)	5.24
4.- Proteína Cruda (g/100g de muestra original)	67
5.- Fibra Cruda (g/100g de muestra original)	0.32
6.- Carbohidratos (g/100g de muestra original)	16.06
7.- Energía Total (kcal 100g de muestra original)	375.39
8.- Capacidad de retención de agua (ml/g)	2.78
9.- Capacidad Espumante (%)	0.108

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:**

- 1.- AOAC International official Methods of Analysis 19th Edition 2012.925.10
- 2.- AOAC International official Methods of Analysis 19th Edition 2012.923.03
- 3.- AOAC International official Methods of Analysis 19th Edition 2012.922.06
- 4.- AOAC International official Methods of Analysis 19th Edition 2012.920.87
- 5.- AOAC International official Methods of Analysis 19th Edition 2012.920.86
- 6.- Por cálculo tabla de composición de alimentos 2009 - INS
- 7.- Por cálculo tabla de composición de alimentos 2009 - INS

Atentamente:

  
Ing. Amb. Diego Suarez Ramos  
JEFE DEL LABORATORIO DE  
ANÁLISIS QUÍMICO

  
DIRECCIÓN  
  
Mg. Sc. Juan Carlos Palma  
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO  
ACADÉMICO DE QUÍMICA

## ANEXOS E.



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



**INFORME DE ENSAYOS**  
**LASAQ N°02-2019-DQ**


**SOLICITANTE** : Gabriela del Pilar Aliaga Flores  
**PRODUCTO DECLARADO** : Aislado Proteico Liofilizado  
**NÚMERO DE MUESTRAS** : 01  
**CANTIDAD RECIBIDA** : 20 g  
**MARCA** : sin marca  
**FORMA DE PRESENTACIÓN** : En bolsa de plástico  
**MUESTREO POR** : Muestra proporcionada por el solicitante.  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 21 de enero del 2019  
**FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO**: 8 de marzo del 2019  
**ENSAYOS SOLICITADOS** : PROPIEDADES FUNCIONALES

ENSAYO	RESULTADO
1.- Capacidad de Retención de Agua /g	1.45
2.- Solubilidad Máxima a pH 11 (%)	90
2.1.- Solubilidad Mínima a pH 6 (%)	15
3.- Capacidad de Gelificación (%)	10
4.- Capacidad de Formación de Espuma (%)	20
5.- Capacidad de Emulsificación (%)	50
6.- Capacidad de Absorción de Aceite g/g	1.20

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:**

- 1.- Metodo Descrito por Beuchat, 1977
- 2.- Metodo descrito por Butty Batool, 2010
- 3.- Metodo descrito por Coffman y Garcias, 1977
- 4.- Metodo descrito por Sosulski et al , 1976
- 5.- Metodo descrito por Yasumatsu et al , 1972
- 6.- AOAC 1990

Atentamente:

  
 Ing. Amb. Diego Suarez Ramos  
**JEFE DEL LABORATORIO DE**  
**ANÁLISIS QUÍMICO**

  
 Mg. Sc. Juan Carlos Palma  
**DIRECCIÓN DEL DEPARTAMENTO**  
**ACADÉMICO DE QUÍMICA**



## ANEXO F.



## LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



### INFORME DE ENSAYOS

N° 001839-2019

**SOLICITANTE** : ALIAGA FLORES GABRIELA  
**DIRECCIÓN LEGAL** : MZ C 1 LT 12 SAN DIEGO DE PRO - SAN MARTIN DE PORRES - LIMA  
 RUC : 72694130 Teléfono : 954930158  
**PRODUCTO** : AISLADO PROTEICO DE FREJOL DE PALO  
**NUMERO DE MUESTRAS** : Uno  
**IDENTIFICACIÓN/MTRA** : S.I.  
**CANTIDAD RECIBIDA** : 178,7 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.  
**MARCA(S)** : S.M.  
**FORMA DE PRESENTACIÓN** : Envasado, la muestra ingresa en bolsa cerrada.  
**SOLICITUD DE SERVICIOS** : S/S N°EN- 000700 -2019  
**REFERENCIA** : PERSONAL  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 08/02/2019  
**ENSAYOS SOLICITADOS** : FÍSICO / QUÍMICO  
**PERÍODO DE CUSTODIA** : No aplica

#### RESULTADOS:

##### ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO
1 - Proteína Total (g / 100g de muestra original)(Factor: 6,25)	64,7
2 - Aminoácidos	
- Ácido Aspártico (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,98
- Ácido Glutámico (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,66
- Serina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,52
- Glicina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,35
- Histidina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,39
- Treonina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,37
- Alanina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,30
- Arginina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,01
- Prolina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,44
- Tirosina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,30
- Valina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,46
- Metionina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,22
- Isoleucina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,06
- Leucina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,07
- Fenilalanina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,69
- Lisina (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	1,25
3 - Triptófano (g de aminoácido / 100 g de muestra original)	0,39

##### MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

- 1.- AOAC 920.7 Cap. 32, Pág. 14, 20th Edition 2016
- 2.- Analytical Biochemistry 136, 65-74 1984
- 3.- LMCTL-006F 2001

CONTINÚA INFORME DE ENSAYOS N° 001839-2019

Pág. 1/2



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



**INFORME DE ENSAYOS**

**N° 001839-2019**

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 08/02/2019 Al 11/03/2019.

**ADVERTENCIA:**

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Válido sólo para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.
- 4.- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA

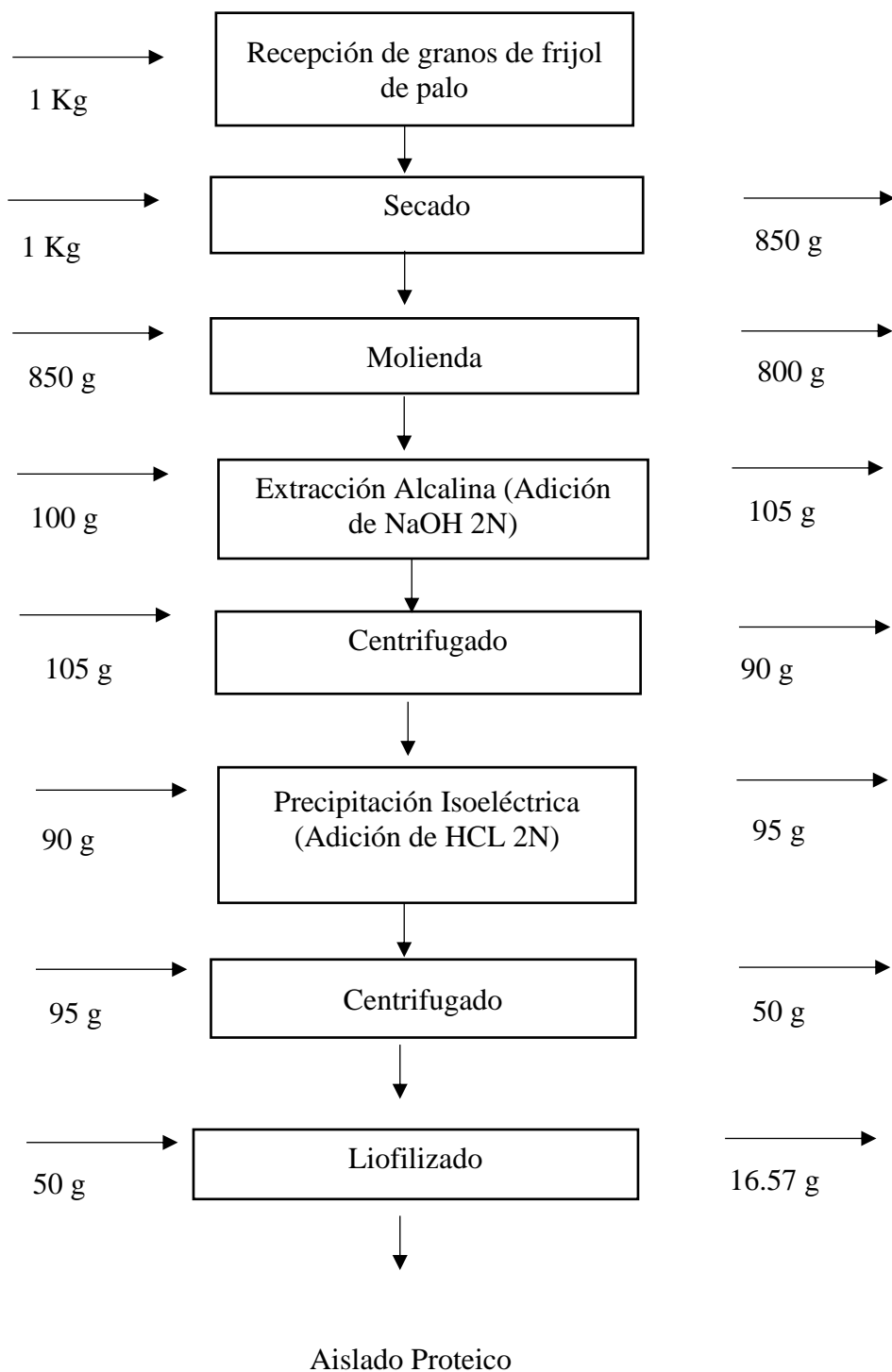
La Molina, 11 de Marzo de 2019



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS-UNALM  
  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 C.O.P. N° 635

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Pág. 2/2

**ANEXO G. Diagrama de flujo del rendimiento del proceso de extracción del aislado proteico.**

**ANEXO H. Datos obtenidos del proceso para superficie de respuesta.**

	<b>Tiempo</b>	<b>Relación Soluta/solvente</b>	<b>pH</b>	<b>%Rendimiento</b>
<b>1</b>	10.00000	3.000000	9.00000	11.190
<b>2</b>	10.00000	3.000000	11.00000	11.570
<b>3</b>	10.00000	7.000000	9.00000	10.040
<b>4</b>	10.00000	7.000000	11.00000	16.570
<b>5</b>	30.00000	3.000000	9.00000	10.880
<b>6</b>	30.00000	3.000000	11.00000	12.545
<b>7</b>	30.00000	7.000000	9.00000	11.400
<b>8</b>	30.00000	7.000000	11.00000	12.545
<b>9</b>	3.18207	5.000000	10.00000	11.950
<b>10</b>	36.81793	5.000000	10.00000	14.840
<b>11</b>	20.00000	1.636414	10.00000	12.010
<b>12</b>	20.00000	8.363586	10.00000	14.530
<b>13</b>	20.00000	5.000000	8.31821	12.360
<b>14</b>	20.00000	5.000000	11.68179	14.010
<b>15</b>	20.00000	5.000000	10.00000	13.135
<b>16</b>	20.00000	5.000000	10.00000	13.135
<b>17</b>	20.00000	5.000000	10.00000	13.135
<b>18</b>	20.00000	5.000000	10.00000	13.135