

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL



**“EFECTO DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y LOS DÍAS
VEGETATIVOS EN LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS
DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA
(*AMARANTHUS CAUDATUS*)”**

PRESENTADO POR:

Bach. LÓPEZ PEREZ RONY

Bach. ORTIZ MORENO ANGELA MARCELA

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

Chimbote – Perú

2017

DEDICATORIA

A Dios por guiarme y ser siempre mi fortaleza
en todo momento especialmente en los de
debilidad.

A mi madre, Vilma Moreno, por ser el pilar más
importante en mi vida brindarme su amor y apoyo
incondicional a lo largo de mi carrera profesional.

A mis abuelos Víctor y Vilma, por ser como unos padres para
mí, que siempre me brindaron consejos, comprensión,
motivación y ayuda constante para continuar este camino, a
ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento. Y a mi
familia en general por su apoyo y cariño incondicional

Angela Ortiz Moreno

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fuerza espiritual cada día para seguir adelante ante las adversidades de la vida.

A mi padre, Elmer López Lozano, que desde el cielo derrama muchas bendiciones para continuar mi carrera profesional; y a mi madre, Nancy Pérez Rosadio, ya que por su esfuerzo y dedicación suya, estoy donde estoy. Les agradezco infinitamente a ambos su apoyo brindado.

A mis hermanos Milán y Lorena López, por confiar en mí y en mi dedicación para cada cosa que lograba emprender.

A mis demás familiares, por estar cada momento conmigo dándome un apoyo necesario el cual fue útil cuando más lo necesitaba.

Rony López Perez

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darnos la fortaleza espiritual y permitirnos salir adelante con bienestar y salud en la ejecución de nuestro trabajo de investigación.

Al Ms. Jorge Domínguez Castañeda por habernos brindado su motivación y apoyo constante desde el primer momento hasta la culminación de nuestro presente trabajo.

A los técnicos de laboratorio de esta prestigiosa casa de estudios; John G., Berenice C., Elizabet C. y Rebeca S.; por habernos facilitarnos los diferentes ambientes de la escuela profesional en donde se realizó de manera exitosa la ejecución de nuestro trabajo de investigación.

A los estudiantes de Ingeniería Agrónoma de esta casa de estudios Javier Cobba y Baggio Alegre por su orientación y apoyo constante durante la siembra del cultivo de kiwicha.

A Elmer Ortiz, que con su experiencia nos apoyó en el cuidado y manejo del cultivo de kiwicha.

A cada uno los docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por habernos brindado parte de sus conocimiento en el transcurso de nuestra estadía en esta prestigiosa casa de estudios.

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. KIWICHA (<i>Amaranthus Caudatus</i>).....	3
2.1.1. DEFINICIÓN.....	3
2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL AMARANTO	3
2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	4
2.1.4. FENOLOGÍA DEL AMARANTO.....	11
2.1.5. REQUERIMIENTOS BÁSICOS DEL CULTIVO	13
2.1.6. TÉCNICAS DE MANEJO DEL CULTIVO	14
2.1.7. CICLO VEGETATIVO Y RENDIMIENTOS	15
2.2. HOJA DE KIWICHA (<i>Amaranthus Caudatus</i>).....	16
2.3. LAS PROTEÍNAS	19
2.3.1. DEFINICIÓN.....	19
2.3.2. IMPORTANCIA	19
2.3.3. ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS	20
2.3.4. LOS AMINOÁCIDOS.....	24
2.3.5. PROPIEDADES LAS PROTEÍNAS	26
2.4. CONCENTRADO PROTEICO FOLIAR.....	32

	Página
2.4.1. ANTECEDENTES	33
2.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	35
2.5.1. HIDROLISIS BÁSICA - ÁCIDA.....	35
2.5.2. MÉTODO POR EXTRACCIÓN TÉRMICA.....	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1. MATERIALES.....	38
3.1.1. EQUIPOS.....	38
3.1.2. REACTIVOS	38
3.2. MÉTODOS.....	39
3.2.1. OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	39
3.2.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE LAS HOJAS DE KIWICHA.....	40
3.2.3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	40
3.2.4. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL CONCENTRADO PROTEICO.....	51
3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO DE LA INVESTIGACIÓN.....	56
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	58
4.1. EVALUACIÓN DE LA ALTURA DEL CULTIVO DE KIWICHA EN CADA ETAPA VEGETATIVA	58
4.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS HOJAS DE KIWICHA	60
4.3. ANÁLISIS PROXIMAL DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS	61

	Página
4.4. RENDIMIENTOS EN LA OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA	71
4.5. CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA	73
4.5.1. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA.....	73
4.5.2. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE	77
4.5.3. CONTENIDO DE PROTEÍNAS DEL CONCENTRADO.....	80
4.5.4. PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL CONCENTRADO PROTEICO	86
V. CONCLUSIONES.....	91
VI. RECOMENDACIONES.....	93
VII. BIBLIOGRAFÍA	94
ANEXOS	102

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Clasificación Taxonómica del Amaranto	4
Tabla 2: Composición de Granos Andinos (g/100g de materia seca).....	11
Tabla 3: Composición química de las hojas de Kiwicha (Amaranto) en base seca.....	18
Tabla 4: Condiciones cromatográficas para el concentrado proteico de hojas de Kiwicha.....	55
Tabla 5: Gradiente de Fase Móvil.....	55
Tabla 6: Alturas promedios de la planta y panoja de la Kiwicha en cada etapa vegetativa	58
Tabla 7: Análisis proximal de las hojas de Kiwicha en cuatro etapas vegetativas	60
Tabla 8: Análisis Proximal del Concentrado Proteico de Hojas de Kiwicha por ambos métodos de extracción y en sus 4 etapas vegetativas	62
Tabla 9: Rendimiento del concentrado de proteínas de hojas de kiwicha obtenido por ambos métodos de extracción y en cada etapa vegetativa.....	71
Tabla 10: Capacidad de absorción de agua del concentrado proteico de ambos métodos para cada etapa vegetativa	73
Tabla 11: Análisis de Varianza para capacidad de absorción de agua - Suma de Cuadrados Tipo III.....	75
Tabla 12: Capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico de ambos métodos para cada etapa vegetativa	77
Tabla 13: Análisis de Varianza para capacidad de absorción de aceite - Suma de Cuadrados Tipo III.....	78
Tabla 14: Porcentaje de proteínas del concentrado proteico obtenido por los dos métodos de extracción para cada etapa vegetativa.....	80
Tabla 15: Análisis de Varianza para proteínas - Suma de Cuadrados Tipo III.....	81

Tabla 16: Perfil de aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenido por el método de extracción térmica y a los 60 días de su etapa vegetativa	86
Tabla 17: Perfil de aminoácidos esenciales del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenido por el método de extracción térmica y su comparación con los requerimientos de aminoácidos para niños pre – escolares de 2 a 5 años de edad según FAO/OMS.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Planta de amaranto	5
Figura 2: Tallo de la planta de amaranto	6
Figura 3: Hojas de amaranto	7
Figura 4: Flor o panoja del amaranto	8
Figura 5: Fruto del amaranto.....	9
Figura 6: Semilla del amaranto	10
Figura 7: Estructura primaria de la proteína	21
Figura 8: Hélice α y lámina β de la estructura secundaria de las proteínas	22
Figura 9: Estructura terciaria de la proteína.....	23
Figura 10: Diagrama de flujo del proceso de acondicionamiento de la materia prima para la hidrólisis química.....	41
Figura 11: Diagrama de flujo de la obtención del concentrado proteico mediante la hidrólisis química.....	44
Figura 12: Diagrama de flujo para la obtención de un concentrado proteico mediante la extracción térmica.....	48
Figura 13: Diagrama de flujo de la capacidad de absorción de agua del concentrado proteico	52
Figura 14: Diagrama de flujo del diseño estadístico experimental.....	57
Figura 15: Porcentaje de humedad de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción	63
Figura 16: Porcentaje de grasa de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción.....	65
Figura 17: Porcentaje de ceniza de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción.....	66

	Página
Figura 18: Porcentaje de proteínas de los concentrados de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción.....	68
Figura 19: Porcentaje de carbohidratos de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción	69
Figura 20: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en la capacidad de absorción de agua del cocentrado de proteínad de hojas de kiwicha	74
Figura 21: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en la capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico de hojas de kiwicha	79
Figura 22: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en el porcentaje de proteínas del concentradro proteico de hojas de kiwicha	82
Figura 23: Cromatograma del estándar de aminoácidos.....	87
Figura 24: Cromatograma de aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenida por extracción térmica a los 60 días de su etapa vegetativa.....	87
Figura 25: Preparación del terreno para el cultivo de kiwicha	103
Figura 26: Siembre de semillas de kiwicha utilizando el método de chorro continuo	103
Figura 27: Cultivo de kiwicha a los 30 días de su etapa vegetativa	104
Figura 28: Cultivo de kiwicha a los 60 días de su etapa vegetativa	104
Figura 29: Cultivo de kiwicha a los 90 días de su etapa vegetativa	105
Figura 30: Cultivo de kiwicha a los 120 días de su etapa vegetativa	105
Figura 31: Secado de hojas de kiwicha.....	106
Figura 32: Molienda de hojas secas de kiwicha.....	106
Figura 33: Harina de hojas de kiwicha	107
Figura 34: Lavado de hojas de kiwicha con alcohol al 20%.....	107
Figura 35: Harina de kiwicha después de lavado con alcohol 20%.....	107

	Página
Figura 36: Extracto después de haberse llevado a pH 11	108
Figura 37: Filtración	108
Figura 38: Centrifugación para retirar carbohidratos.....	108
Figura 39: Acidificación hasta un pH 4.	109
Figura 40: Precipitación de proteínas por el método de hidrolisis química.....	109
Figura 41: Concentrado proteico secado y molido por el método de hidrolisis química.	109
Figura 42: Lavado y desinfección de hojas de kiwicha	110
Figura 43: Trituración de hojas con agua en relación 1:3.....	110
Figura 44: Extracción de jugo mediante filtración manual.....	111
Figura 45: Precipitación de proteínas por calor	111
Figura 46: Proteínas precipitadas.....	111
Figura 47: Concentrado proteico obtenido mediante extracción térmica	112

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 1: Terreno de cultivo de kiwicha	103
ANEXO 2: Etapas vegetativas de la kiwicha	104
ANEXO 3: Método de extracción por hidrólisis química	106
ANEXO 4: Método de extracción térmica.....	110
ANEXO 5: Constancia de Análisis de Perfil de aminoácidos	113

RESUMEN

En este trabajo de investigación se evaluó el efecto que tiene dos métodos de extracción de proteínas y las etapas vegetativas de la kiwicha en las características fisicoquímicas del concentrado proteico que se obtuvo de estas hojas. El método por extracción térmica consistió en hacer precipitar las proteínas mediante un calentamiento en un rango de temperatura de 60 – 70 °C durante 3 minutos dejándolo enfriar hasta 25 °C.; mientras que el método por hidrólisis química, consistió en precipitar primero los carbohidratos a un pH 11 con NaOH al 0.5 N y por último, hacer precipitar las proteínas a su punto isoeléctrico llevándolo a un pH 4.0 con HCl al 0.5N. Las etapas vegetativas evaluadas fueron de 30, 60, 90 y 120 días.

Los resultados del análisis proximal de las hojas de kiwicha se ven afectados considerablemente conforme aumenta los días de las etapas vegetativas, lo cual se debe a la absorción de nutrientes de toda la planta por parte del mismo grano.

Una de las características fisicoquímicas evaluadas fue la capacidad de absorción de agua, en donde ambos factores independientes de la investigación afectan significativamente ($p \leq 0.05$). En el caso del concentrado proteico obtenido por el método de extracción térmica, sus valores disminuyen desde 1.9727 ± 0.0153 hasta 1.2454 ± 0.0205 g Agua / g Muestra a los 30 y 120 días respectivamente; así mismo, el concentrado obtenido por hidrólisis química también tiene este mismo comportamiento cuyo valores van desde 2.0596 ± 0.0231 hasta 1.8543 ± 0.0257 g Agua / g Muestra a los 30 y 120 días respectivamente, siendo este último método el que permite obtener mayores valores en toda su etapa vegetativa.

Por otro lado, la capacidad de absorción de aceite solo tiene diferencias significativas por la influencia de los métodos de extracción, donde el método de hidrólisis química permite tener valores por encima del otro; además de tener un comportamiento inversamente proporcional con las etapas vegetativas.

Y por último, el contenido de proteínas del concentrado proteico se vio afectado tanto por los métodos de obtención del mismo, como las etapas vegetativas en las que se va obteniendo. El concentrado se encontró en un rango de 53.2583 ± 0.1388 hasta 29.1822 ± 0.0799 y de 50.1163 ± 0.1574 hasta 17.4795 ± 0.1304 para la extracción térmica e hidrólisis química respectivamente.

Por lo tanto, los métodos de extracción y días de etapas vegetativas influyen significativamente tanto en el contenido de proteínas, como en la absorción de agua: mientras que para el caso de la capacidad de absorción de aceite solo es significativo los métodos de extracción.

Palabras claves:

Concentrado proteico, hojas de Kiwicha y absorción de agua y aceite

ABSTRACT

In this research the effect of extraction methods and kiwi vegetative stages on the physicochemical characteristics of the protein concentrate obtained from these leaves was evaluated. The method by thermal extraction consisted of precipitating the bacteria by heating in a temperature range of 60-70 ° C for 3 minutes, allowing it to cool to 25 ° C; while the method by chemical hydrolysis consisted of precipitating the carbohydrates first at pH 11 with 0.5 N NaOH and finally precipitating the proteins at their isoelectric point, carrying pH 4.0 with HCl at 0.5 N. The vegetative stages evaluated were of 30, 60, 90 and 120 days.

The results of the proximal analysis of the leaves of kiwicha are considerably affected during the days of the vegetative stages, which is due to the absorption of nutrients of the whole plant by the same grain.

One of the physicochemical characteristics evaluated was the capacity of water absorption, where both independent factors of the investigation affect significantly ($p \leq 0.05$). In the case of the protein concentrate obtained by the thermal extraction method, its values decrease from 1.9727 ± 0.0153 to 1.2454 ± 0.0205 g Water / g Sample at 30 and 120 days respectively; Also, the concentrate obtained by the chemical hydrolysis also has this same behavior whose values range from 2.0596 ± 0.0231 to 1.8543 ± 0.0257 g Water / g Sample at 30 and 120 days respectively, the latter method being the one that allows to obtain higher values in vegetative stage.

On the other hand, the absorption capacity of the oil only has significant differences due to the influence of the extraction methods, when the chemical hydrolysis method allows to have values above the other; in addition to having a behavior inversely proportional to the vegetative stages.

And finally, the protein content of the protein concentrate was affected by both the methods of obtaining the same, and the vegetative stages in which they were obtained. The concentrate was in the range of 53.2583 ± 0.1388 to 29.1822 ± 0.0799 and 50.1163 ± 0.1574 to 17.4795 ± 0.1304 for thermal extraction and chemical hydrolysis, respectively.

Therefore, the extraction methods and the vegetative stages days influence both the protein content and the water absorption, whereas for the case of oil absorption it is only significant in the extraction methods.

Keywords:

Protein concentrate, Kiwicha leaves and water and oil absorption.

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día los tallos y hojas de kiwicha son residuos agroindustriales que no se le dan importancia después de su cosecha a pesar de tener excelentes cualidades nutritivas; es por ello que mediante esta investigación se busca dar alcance de otra nueva fuente excelente de proteínas.

Al encontrar una nueva fuente de proteína, beneficiara al agricultor, debido a que se generará un desarrollo para ellos a nivel económico, al saber que hay un recurso que se puede aprovechar después de la cosecha. Así mismo la extracción de proteína de hojas de kiwicha busca fomentar que se pueda integrar estos concentrados en un futuro en líneas de alimentos tanto para consumo humano como animales, en comida balanceada.

Actualmente, en la industria de los alimentos el grano se ha explotado en mayor proporción para la obtención de materia prima y/o producto terminado; mientras que la fracción vegetal (tallos y hojas), a pesar de que posee excelentes cualidades nutritivas y medicinales, sólo se utiliza como forraje, dando poca importancia a su amplio potencial biotecnológico (García, 2007). Así también (Tamayo, Gieteling, Govardus & Remko, 2016) afirman que “Las hojas de las plantas son una fuente potencial de las nuevas proteínas de los alimentos”, es por ello que hoy en día nace la iniciativa de utilizar este tipo de materia prima como fuente de proteínas.

Además, la ciencia de los alimentos ha promovido un nuevo concepto de nutrición alimentaria donde incluye alimentos que coadyuvan en el mejoramiento de la salud y disminuyen los riesgos de enfermedades en los consumidores; por consecuencia se han diseñado estrategias para encontrar materias primas naturales principalmente de origen vegetal, con alto contenido en proteínas a partir de las que se pueden extraer péptidos bioactivos con efectos benéficos en el organismo (Torruco-Uco et al. citado en García, 2007).

En la actualidad se busca reducir la ingesta de proteínas de fuente animal y comenzar a sustituirlas por las proteínas vegetales, de tal forma en los últimos años se está desarrollando métodos de extracción de las proteínas de fuente vegetal, es por eso que este trabajo de investigación busca evaluar el efecto de dos métodos de extracción y los días vegetativos en las características fisicoquímicas de un concentrado proteico a partir de hojas de kiwicha

El presente trabajo de investigación tiene como primer objetivo caracterizar física y químicamente las hojas de kiwicha de cada etapa vegetativa, luego obtener el concentrado proteico por dos métodos de extracción (hidrólisis química y extracción térmica), para luego cuantificar su contenido de proteínas y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, tales como capacidad de absorción de agua y aceite, los cuales son propiedades importantes que definen el comportamiento y calidad de un concentrado proteico; y por último, determinar el perfil de aminoácidos de uno de los concentrados proteicos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. KIWICHA (*Amaranthus Caudatus*)

2.1.1. DEFINICIÓN

Esta planta pertenece a la familia de la Amarantáceas, se caracteriza por ser una planta anual que alcanza de 0.70 a 2.50 metros. Posee un tallo ramificado que termina en una inflorescencia larga (0.50 a 0.90 m) y de diferentes colores. Estas inflorescencias obtienen pequeños granos de gran valor alimenticio, además este supera al trigo por su alto contenido de proteínas (12.9%) (Rivera, 1995).

Las plantas de amaranto presentan grano blanco y negro y según sea su color pertenece a una especie en particular. El más utilizado para el consumo alimenticio es el amaranto de grano blanco que se utiliza de 10 diversas formas y el amaranto de grano color negro se utiliza como planta medicinal que incluso es de exportación (Poligrafiados Andinos II, 2012 citado en García, 2015).

2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL AMARANTO

Amaranto es el nombre común que es como se le conoce localmente en los diferentes lugares tanto desde quienes lo cultivan hasta los que lo expenden en los mercados. La clasificación taxonómica descrita por (Poligrafiados Andinos II, 2012 citado en García, 2015) corresponde a la tabla 1.

Tabla 1: Clasificación Taxonómica del Amaranto

Reino	Plantae (Vegetal)
Sub – Reyno	Antofita (Fanerógamas)
División	Sérmatofhyta (Espermatofita)
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledónea
Orden	Centrospermales
Familia	Amarantaceae
Género	Amaranthus
Especie	Caudatus
Nombre Científico	<i>Amaranthus Caudatus</i>
Nombre Vulgar	Ataco, Sangorache o Quinoa de Castilla

FUENTE: Reyes, 1985 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012.

2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

a. Planta

El amaranto es una especie que alcanza gran desarrollo en suelos fértiles; en algunos casos supera los 2 metros de altura. Generalmente tiene un solo eje central, aunque también se presentan ramificaciones desde la base y a lo largo del tallo. (Mazon, et al., 2003 citado en Mendoza, 2013). En la figura 1 se muestra la planta de amaranto.



Figura 1: Planta de amaranto

b. Raíz

La raíz es pivotante con un buen número de ramificaciones y múltiples raicillas delgadas, que se extienden rápidamente después de que el tallo empieza a ramificarse, facilitando la absorción de agua y nutrientes. (Tapia, 1997 citado en Mora, 2008).

c. Tallo

El tallo es cilíndrico y anguloso con gruesas estrías longitudinales que le dan una apariencia acanalada, alcanza de 0. a 3 m de longitud, cuyo grosor disminuye de la base al ápice, presenta distintas coloraciones que generalmente coinciden con el color de las hojas, aunque a veces se observan estrías de diferentes colores, presenta ramificaciones que en muchos casos comienzan desde la base o a media altura y que se originan en las axilas de las hojas. (Villa, 2012). En la figura 2 se muestra el tallo de la planta de amaranto.



Figura 2: Tallo de la planta de amaranto

d. Hojas

Las hojas son pecioladas, sin estipulas de forma oval, elíptica, alternas u opuestas con nervaduras prominentes en el envés, lisas o poco pubescentes de color verde o púrpura cuyo tamaño disminuye de la base al ápice, presentando borde entero de tamaño variable de 6.5 – 15 cm. (Sumar, 1993 y Tapia, 1997 citado en Mora, 2008). En la figura 3 se muestra las hojas del amaranto.



Figura 3: Hojas de amaranto

e. Flor

También conocido como panoja, el amaranto posee grandes inflorescencias que llegan a medir hasta 90 centímetros de largo y pueden ser decumbentes, semirecto y erectas, adoptando formas glomerulares, densas, laxas o compactas. (Sumar, 1982 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012). En la figura 4 se muestra la flor o panoja del amaranto.



Figura 4: Flor o panoja del amaranto

f. Fruto

El fruto es una cápsula, que cuando madura presenta dehiscencia transversal, lo que facilita la caída de la semilla. En el grano se pueden diferenciar tres partes: la cubierta, conocida como epispermo, una segunda capa que está formada por los cotiledones y es la parte más rica en proteína, y una capa interna, rica en almidones conocida como perisperma. (Nieto, 1990 citado en Mendoza, 2013). En la figura 5 se muestra el fruto del amaranto.



Figura 5: Fruto del amaranto

g. Semilla

La semilla es muy pequeña, mide de 1 a 1.5 mm de diámetro y el número de semillas por gramo oscila entre 1 000 y 3 000. Son de forma circular y de colores variados, existen granos blancos, blanco amarillentos, dorados, rosados, rojos y negros. Todas las especies silvestres presentan granos negros y de cubiertas muy duras. (Manuel y Suquilandia 2000 citado en García, 2013). En la figura 6 se muestra la semilla del amaranto.

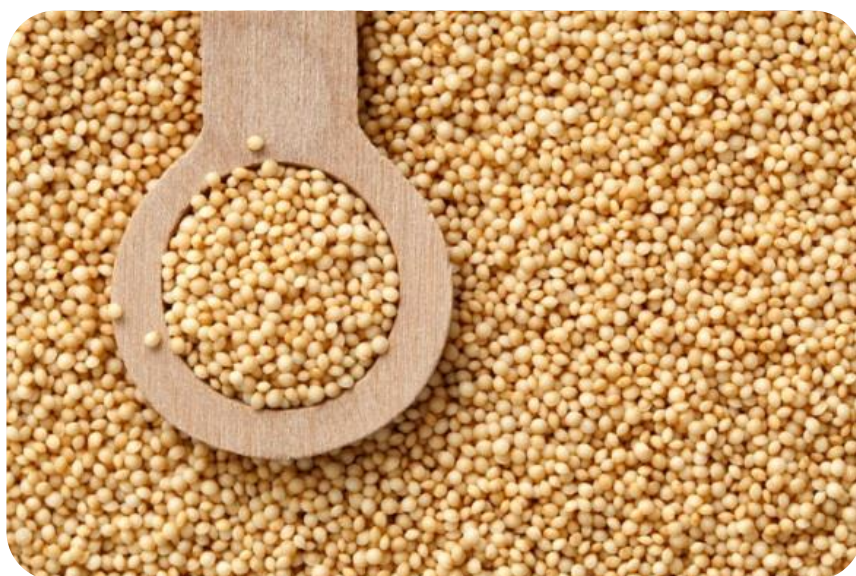


Figura 6: Semilla del amaranto

Uno de los componentes más abundantes de las semillas de amaranto es la proteína. Además sobre la base de la composición de aminoácidos, la proteína de semilla de amaranto es conocida por ser de mayor calidad que la mayoría de los principales granos de cereal. El contenido de lisina es de dos a tres veces mayor que la de los cereales más comunes. (Wrigley, Corke, Seetharaman & Faubion, 2016).

En la tabla 2 se muestra composición de la kiwicha en comparación con otros granos andinos.

Tabla 2: Composición de Granos Andinos (g/100g de materia seca)

	Kiwicha	Quinua	Cañigua	Trigo
Proteína	12.9	11.7	14	8.6
Grasa	7.2	6.3	4.3	1.5
Carbohidratos	65.1	65	64	73.7
Fibra	6.7	5.2	9.8	3
Ceniza	2.5	2.8	5.4	1.7
Humedad (%)	12.3	11.2	12.2	11.5

FUENTE: Collazos et al, 1975 citado por Rivera, 1995

2.1.4. FENOLOGÍA DEL AMARANTO

La descripción de los estados fenológicos de la kiwicha ha sido presentada de la siguiente manera (Henderson, 1993 citado en INIA, 2011).

a. Emergencia

Es la fase en la cual las plántulas emergen del suelo y muestran sus dos cotiledones extendidos y en el surco se observa por lo menos un 50% de población en este estado. Todas las hojas verdaderas sobre los cotiledones tienen un tamaño menor a 2 cm de largo. Este estado puede durar de 8 a 21 días dependiendo de las condiciones agroclimáticas (Mora, 2008).

b. Fase vegetativa

Estas se determinan contando el número de nudos en el tallo principal donde las hojas se encuentran expandidas por lo menos 2 cm de largo. El primer nudo corresponde al estado vegetativo 1 el segundo es el estado vegetativo 2 y así sucesivamente. A medida que las hojas basales senescen la cicatriz

dejada en el tallo principal se utiliza para considerar el nudo que corresponda. La planta comienza a ramificarse en el estado vegetativo 4 (INIA, 2011).

c. Fase reproductiva

- **Inicio de panoja**

El ápice de la inflorescencia es visible en el extremo del tallo. Este estado se observa entre 50 y 70 días después de siembra (Mora, 2008)

- **Panoja**

La panoja tiene al menos 2 cm de largo (Mora, 2008).

- **Término de panoja**

La panoja tiene al menos 5 cm de largo. Si la antesis ya ha comenzado cuando se ha alcanzado esta etapa, la planta debería ser clasificada en la etapa siguiente (INIA, 2011).

- **Antesis**

Al menos una flor se encuentra abierta mostrando los estambres separados y el estigma completamente visible. (INIA, 2011).

- **Llenado de granos**

La antesis se ha completado en al menos el 95% del eje central de la panoja; en donde al inicio los granos son lechosos, y al presionarlo con los dedos, dejan salir un líquido lechoso. Luego son granos pastosos, de manera que al presionarlo, presenta una consistencia pastosa de color blanquecino (Mora, 2008).

- **Madurez fisiológica**

Un criterio definitivo para determinar madurez fisiológica aún no ha sido establecido; pero el cambio de color de la panoja es el indicador más utilizado. En panojas verdes, éstas cambian de color verde a un color oro

y en panojas rojas cambian de color rojo a café-rojizo. Además las semillas son duras y no es posible enterrarles la uña. En este estado al sacudir la panoja, las semillas ya maduras caen (INIA, 2011)

- **Madurez de cosecha**

Las hojas senescen y caen, la planta tiene un aspecto seco de color café. Generalmente se espera que caiga una helada de otoño para que disminuya la humedad de la semilla (Mora, 2008).

2.1.5. REQUERIMIENTOS BÁSICOS DEL CULTIVO

a. Requerimientos de clima

El rango de adaptación para el amaranto va desde el nivel del mar hasta los 2800 metros de altitud, sin embargo, las especies que mejor comportamiento presentan a altitudes superiores a los 1000 metros son *A. caudatus* y *A. quitensis*. En general todas las especies crecen mejor cuando la temperatura está en un rango de 18° a 24°C y al parecen ser las óptimas para el cultivo. En general, todas las especies prosperan muy bien en ambientes con alta luminosidad. Es un cultivo que requiere de humedad adecuada en el suelo durante la germinación de las semillas y el crecimiento inicial, pero luego de que las plántulas se han establecido prosperan muy bien en ambientes con humedad limitada, de hecho hay un mejor crecimiento en ambientes secos y calientes que en ambientes con exceso de humedad. (Montero, et al., 1994 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012).

b. Tipo de suelo

El género *Amaranthus*, se adapta a una amplia gama de tipos de suelo, sin embargo, las especies productoras de grano, prosperan mejor en suelos bien

drenados con pH neutro o alcalino (generalmente superior a 6). (Nieto, 1994 citado en Villarroel, 2012).

2.1.6. TÉCNICAS DE MANEJO DEL CULTIVO

a. Preparación del suelo y siembra

Se pueden hacer siembras directas o mediante trasplantes de plántulas previamente germinadas en semilleros. Cuando la siembra es directa es necesario preparar el suelo hasta que quede completamente mullido (libre de terrones, palos, piedras o restos de cosechas anteriores). La siembra se puede realizar en surcos, de aproximadamente 10 cm. de profundidad y separados a 60 o 70 cm. Dentro del surco se puede sembrar a chorro continuo o en golpes separados a 20 cm.; se puede colocar entre 10 y 20 semillas por golpe y luego tapar con 1 a 2 cm. de suelo suelto. (Nieto, 1990 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012).

b. Deshierbas

El cultivo presenta un crecimiento lento al comienzo del ciclo, por lo que es necesario realizar una deshierba, sobre todo en sitios con abundantes malezas para evitar la competencia. Luego del primer mes de cultivo crece rápidamente y cubre el suelo, impidiendo el desarrollo de malezas; sin embargo también es aconsejable una labor de aporque, la misma que servirá de segunda deshierba. (Monteros, et al., 1994 citado en Mora, 2008).

c. Raleo

Es conveniente realizar raleos para dejar el número adecuado de plantas por unidad de superficie. Se recomienda dejar entre 20 y 30 plantas por m², cuando el cultivo es para cosechar su grano y hasta 80 o 100 plantas por m²,

cuando es para verdura. Sin embargo, también se puede prescindir del raleo, lo que da lugar a cultivos densos cuyas plantas crecen poco y producen menos, pero el rendimiento es compensado por el número de panojas. (INIA Ecuador; 1989).

2.1.7. CICLO VEGETATIVO Y RENDIMIENTOS

La planta es un cultivo de rápido crecimiento con un bajo costo de producción y uno de los vegetales o granos más baratos (Upadhyay y Mishra, 2015 citado en Ngugi, Oyoo-Okoth, Manyalac, Fitzsimmons & Kimotho; 2017)

La duración del ciclo vegetativo depende tanto de la variedad y especie a cultivar, como del ambiente, así con: *A. cruentus*, cultivado a 600 m de altitud con 22°C de temperatura, se obtuvo cosecha a los 90 días desde la siembra, mientras que a 3050 m de altitud con 12°C de temperatura, la cosecha se alcanzó a los 180 días. En general el ciclo del cultivo varía entre 120 y 180 días, pero puede darse casos extremos como 90 o 240 días. Los rendimientos de grano son muy variables, así se han reportado rendimientos desde 900 hasta 4.000 kg/ha, y en lo que se refiere al rendimiento de materia verde en *A. hybridus*, se obtuvieron hasta 20 t/ha de materia fresca a los 40 días desde la siembra, de los cuales el porcentaje de hojas (parte aprovechable como verdura), osciló entre 42 y 60%, mientras que en *A. cruentus* y *A. caudatus* se han encontrado alrededor de 30 t/ha de materia verde a los 30 días y alrededor de 60 t/ha a los 60 días, también con porcentajes de hojas superiores al 40%. (Nieto, 1990 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012).

2.2. HOJA DE KIWICHA (*Amaranthus Caudatus*)

El amaranto tiene un alto contenido de nitrógeno y la planta se puede utilizar fresca o como ensilaje para la alimentación animal. La harina de grano de amaranto o harina de hojas se pueden utilizar para hacer pellets comercial o alimentos para otro compuesto. (Wrigley et al, 2016)

El género *Amaranthus* ha recibido considerable atención debido al alto valor nutricional de algunas especies, ya sea como vegetales o cereales de hojas (Prakash y Pal, 1991 citado por Ngugi, et al., 2017).

Las hojas de amaranto poseen un alto contenido en calcio, hierro (más que la espinaca), magnesio, fósforo y vitamina A y C, lo que lo convierte en un buen complemento con los granos. Las hojas son recomendables comerlas tiernas y cocidas para evitar algunos agentes antinutricionales como los oxalatos y nitritos. Las hojas contienen 17,5 a 30,3% de materia seca en forma de proteína de los cuales 5% es lisina por lo que hace que el amaranto sea una atractiva fuente de proteína (Oliveira y De Carvalho, 1975 citado por Ngugi et al., 2017).

Según la (FAO, 2015) el amaranto puede consumirse como hortaliza y también como cereal. En el caso de las hojas, se recolectan frescas para utilizarlas en ensaladas o escaldadas, al vapor, hervidas y mezcladas con carne, pescado. Cocidas se pueden utilizar como guarnición, en sopas o como ingrediente en salsas y en alimentos infantiles. Y en el caso de los cereales, es un aperitivo muy popular que se vende en diferentes países de Latinoamérica, a veces mezclado con chocolate o arroz inflado, y su uso se ha extendido a Europa y zonas de América del Norte.

En algunos países se come como verdura ocupando el tercer lugar después de la acelga y la espinaca. La proteína tiene altos contenidos de aminoácidos tales como el ácido

aspártico, la glicina, la lisina y el ácido glutámico (Ortega, 2012). (Wrigley et al, 2016) también nos afirma que “la proteína aislada de las hojas de especies de *Amaranthus* es rica en lisina (6.2-6.8%), superior a la de alfalfa, col, y maíz, y que tiene relativamente buena cantidades de otros aminoácidos.”

Las hojas de amaranto en base seca contienen 25 – 30% de proteína, y niveles altos de carotenos y hierro, de alta biodisponibilidad. (Bressani, 1993), también (Alfaro et al., 1987, citado en García, 2007) afirma que “se ha encontrado que el contenido promedio de proteína en la fracción vegetal es de 22.2 %, tomando en cuenta el tallo y hojas de la *k'iwicha*”, años después (Wrigley et al, 2016) también lo afirma, “Las hojas de amaranto contienen 27,8 a 48,6% de materia seca en proteína bruta y, en promedio, tienen un poco más de proteínas que la espinaca”.

El cultivo de varias especies de *Amaranthus* está adquiriendo creciente importancia en algunos países del Continente Americano, debido, entre otros factores a; su doble potencial de uso (verdura y grano), su excelente calidad de proteína, la tolerancia de las plantas a la escasez de agua, y su alta eficiencia fotosintética en climas con buena luminosidad (Wrigley et al, 2016).

Además es importante mencionar la cantidad de materia seca por hectárea que se podría obtener; (Alfaro, Martinez, Ramirez, y Bressani 1985) nos dice que a los 60 aproximadamente se puede obtener una cantidad de 24272 Kg/ha de materia verde de *kiwicha* para la variedad *Hypochondriacus* y por ende un rendimiento en proteínas de 510.7 Kg/ha. Así mismo (Ramamurthy, 2006) para la misma variedad nos indica que a los 60 días obtuvo un rendimiento en hojas, de 9000.57 Kg/ha, mientras que si se aprovecha hojas y tallo esto aumenta a 36780 Kg/ha. Por lo tanto esto significa que hay bastante materia verde que se no se le da un uso y se termina desechando.

En la Tabla 3 se presenta la composición química de las hojas de Kiwicha, en donde se muestra el contenido de proteínas en base seca, el cual es de 22.8%.

Tabla 3: Composición química de las hojas de Kiwicha (Amaranto) en base seca

COMPONENTE	%
Humedad, g% (*)	90.4
Proteína, g%	22.84
Grasa, g%	7.26
Fibra cruda, g%	7.14
Ceniza, g%	7.93
Carbohidratos, g%	45.25
Hierro, mg%	25.10

(*) Componente en base húmeda

FUENTE: Ngugi, et al; 2017

Durante la producción concentrado de proteína de hojas, el rendimiento de proteína final es típicamente 40-60% del total de proteína de hojas y depende de la fuente de la planta y el proceso de extracción (Bals et al, 2012 citado por Tamayo et al., 2016).

Entre las recomendaciones de consumo de hoja de amaranto, una de las más populares es el consumo de hoja cuando está tierna, esto debido principalmente a atributos sensoriales, ya que mientras más madura es la hoja se vuelve más fibrosa, teniendo menos palatabilidad y digestibilidad. (Cárdenas, 2012).

2.3. LAS PROTEÍNAS

2.3.1. DEFINICIÓN

Las proteínas son biopolímeros formados por unidades sencillas llamados α -aminoácidos a través de enlaces llamados peptídicos, con una organización molecular generalmente caracterizada por cuatro tipos de estructura (primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria). De todos los aminoácidos presentes en la naturaleza, solo 20 funcionan como constituyentes de las proteínas y todas las propiedades físicas, químicas y nutritivas de dichos biopolímeros dependen completamente del tipo, de la concentración y de la secuencia de unión de los aminoácidos (Armando, Rosas, Ulloa y Ramírez, 2012)

2.3.2. IMPORTANCIA

Las proteínas poseen su importancia en sus 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 (Baduí, 2006).

Hace dos décadas la desnutrición proteínico-calórica era el principal problema nutricional en países en desarrollo; actualmente ha disminuido aunque no se ha erradicado. En ciertos segmentos económicos es fundamental contar con fuentes de proteínas baratas y accesibles; en otros segmentos los problemas relacionados con la nutrición son ahora diferentes y están vinculados con enfermedades degenerativas, cáncer y obesidad, ya que existe una mayor conciencia de la importancia de mantener la salud y en la prevención de enfermedades (Baduí, 2006).

Las proteínas juegan un papel fundamental, siempre y cuando se consuman en los niveles apropiados y se combinen de manera adecuada con otros elementos de la dieta.

2.3.3. ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Todas las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos. Lo que hace distinta a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos de que está hecha, a tal secuencia se conoce como estructura primaria de la proteína (Luque, 2009).

a. Estructura primaria

En las proteínas pueden reconocerse varios niveles de organización estructural, el primero de ellos es la estructura primaria, que consiste en la secuencia de los aminoácidos en la molécula (Cheftel & Cheftel; 2009)

La estructura primaria viene determinada por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados. Las posibilidades de estructuración a nivel primario son prácticamente ilimitadas. Como en casi todas las proteínas existen 20 aminoácidos diferentes, el número de estructuras posibles viene dado por las variaciones con repetición de 20 elementos tomados de n en n , siendo n el número de aminoácidos que componen la molécula proteica (Luque, 2009).

En la figura 7 se muestra el esquema de la estructura primaria de la proteína.



FUENTE: Villa et al, 2010 citado en Simbaña, 2011

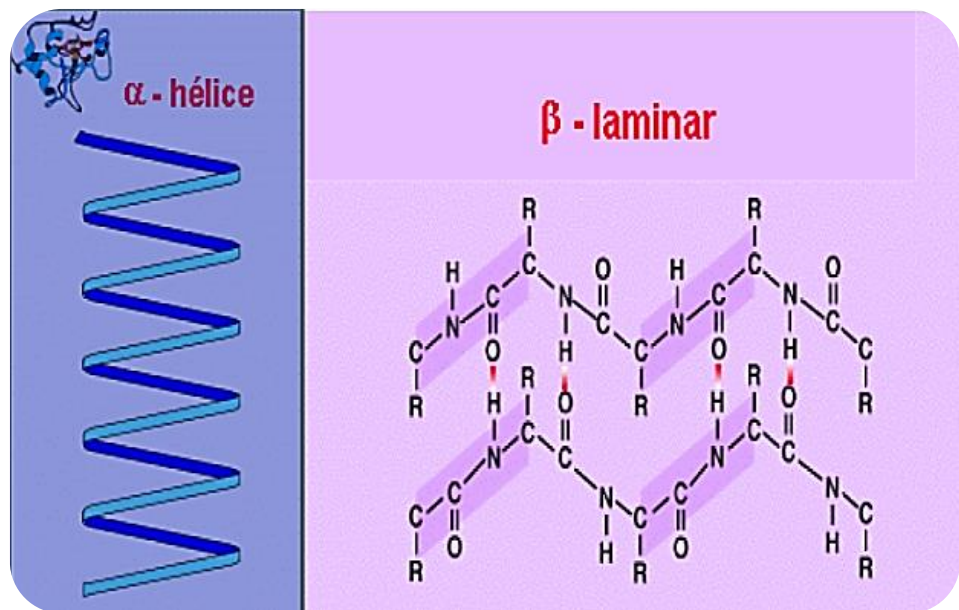
Figura 7: Estructura primaria de la proteína

b. 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 (Baduí, 2006).

Existen dos tipos principales de estructura secundaria: la hélice α y la conformación β . La hélice α se forma al enrollarse helicoidalmente sobre su misma estructura primaria. En la conformación β , es una cadena polipeptídica; los aminoácidos no forman una hélice, sino una cadena en forma de zigzag, denominada disposición en lámina plegada (Berge et al., 2004 citado en Simbaña, 2011).

En la figura 8 aparecen la estructura de la hélice α y la conformación β .



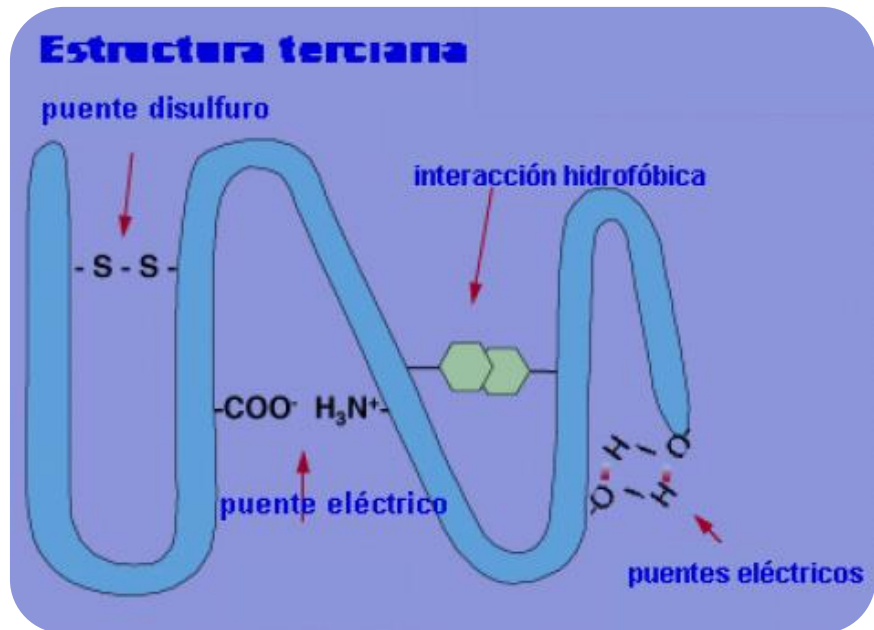
FUENTE: Villa et al, 2010 citado en Simbaña, 2011

Figura 8: Hélice α y lámina β de la estructura secundaria de las proteínas

c. Estructura terciaria

La estructura terciaria de una proteína es la disposición en el espacio de las hélices; o en otras palabras, la forma tridimensional se comporta como si fueran bastante compactas y por lo tanto se conocen como proteínas globulares (Cheftel & Cheftel, 2009).

En la figura 9 se puede apreciar la estructura terciaria de la proteína.



FUENTE: (Villa et al, 2010 citado en Simbaña, 2011)

Figura 9: Estructura terciaria de la proteína

d. Estructura cuaternaria

Cuando una proteína consta de más de una cadena polipeptídica, es decir, cuando se trata de una proteína oligomérica, decimos que tiene estructura cuaternaria. Se deriva de la conjunción de varias cadenas peptídicas que asociadas conforman un multímero, que posee propiedades distintas a la de sus monómeros componentes. Dichas subunidades se asocian entre sí mediante interacciones no covalentes, como pueden ser puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o puentes salinos (Luque, 2009).

2.3.4. LOS AMINOÁCIDOS

Son las unidades más simples de la estructura química común de las proteínas.
(Badui. 2006)

Los aminoácidos esenciales son aquellos que el cuerpo humano no puede generar por sí solo. Esto implica que la única fuente de estos aminoácidos en esos organismos es la ingesta directa a través de la dieta. Las rutas para la obtención de estos aminoácidos esenciales suelen ser largas y energéticamente costosas. Cuando un alimento contiene proteínas con todos los aminoácidos esenciales, se dice que son de alta o de buena calidad. (Luque, 2009)

Entre los aminoácidos esenciales se encuentran Fenilalanina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Triptófano, Valina, Arginina, Histidina.

a. Cuantificación de Aminoácidos

El análisis de aminoácidos encuentra aplicación en muchos campos de investigación siendo uno de los más importantes la estimación del valor nutritivo de alimentos para humanos y para animales. La elevada demanda de información relacionada con el valor nutritivo ha dado lugar al desarrollo de métodos precisos para aminoácidos. Se aplica la cromatografía de líquidos para determinar aminoácidos utilizando una columna de intercambio iónico y reacción postcolumna con ninhidrina. La importancia del análisis de aminoácidos no ha dejado de crecer desde entonces, tanto desde el punto de vista clínico como farmacéutico y alimentario (White y Hart, 1992 citado en Callejón, 2009).

b. Desnaturalización

La desnaturalización es cualquier proceso por el cual el ordenamiento espacial de una proteína cambia de la estructura ordenada de la molécula nativa a una configuración tridimensional más desordenada. Durante la desnaturalización se rompen los enlaces de hidrogeno y los hidrofóbicos y hay un incremento en la entropía o grado de desorden de la molécula con pérdida de la actividad biológica (Cheftel & Cheftel, 2009).

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 (Baduí, 2006).

Además también el autor nos menciona que pueden ocurrir modificaciones conformacionales debidas a cambios térmicos, químicos o efectos mecánicos inducidos por calentamiento o enfriamiento, o bien por tratamientos con agentes que forman puentes de hidrógeno, cambios de pH, cambios en la fuerza iónica por adición de sales, presencia de solventes orgánicos, o bien, la agitación. Muchas veces es común relacionar la desnaturalización con daños a la proteína, ya que pueden perderse funciones fisiológicas, actividad enzimática o bien, modificarse sus propiedades funcionales al ocurrir agregación o insolubilización. La desnaturalización puede ser deseable cuando se habla de elevar la digestibilidad de las proteínas por cocción. También sirve para mejorar funcionalidad, como cuando se aumentan sus propiedades de espumado y emulsificación por el desdoblamiento de las moléculas que favorece la estabilización en interfaces al lograr la exposición

de sitios hidrofóbicos que interactúan con la fase orgánica o hidrofóbica de una emulsión (Baduí, 2006).

Desde el punto de vista nutricional, se modifica la digestibilidad: en general la digestibilidad aumenta, ya que al desplegarse quedan más sitios expuestos al ataque de las proteasas. La digestibilidad puede disminuir si el desplegamiento de la proteína va seguido de agregación. También se modifican las propiedades funcionales de las proteínas (solubilidad, capacidad de formar geles, capacidad emulsificante, capacidad espumante, etc.) (Lupano, 2013).

2.3.5. PROPIEDADES LAS PROTEÍNAS

a. Interacción proteína – proteína

Las principales fuerzas que contribuyen a estas interacciones son las uniones hidrófobas orientadas en forma ordenada, que hacen que se produzcan grandes complejos de proteína. La estructura cuaternaria de las proteínas es el resultado de este tipo de interacción, que es muy común en alimentos con un alto contenido de proteínas (Metrione y Watson, 1999 citado en Villacrés, 2001).

b. Interacción proteína – polisacárido

En general, las reacciones entre carbohidratos y proteínas son de origen iónico. Debido a que las proteínas y los polisacáridos tienen características coloidales, pueden formar agregados con estructuras tridimensionales muy firmes cuya estabilidad es función de la fuerza iónica, del pH del sistema y de la relación proteína – carbohidrato. La mayoría de propiedades y

características físicas de los alimentos dependen de ellas (Cheftel et al, 1989 citado por Villacrés, 2001).

c. Interacción proteína lípido

Los lípidos pueden interaccionar de diferente manera con las proteínas, básicamente a través de puentes hidrófobos o iónicos, aunque también existen puentes salinos. Las lipoproteínas, tienen una función importante en los tejidos vivos e influyen en las propiedades físicas y funcionales de los alimentos. Cada proteína tiene diferente capacidad emulsionante, que depende en gran medida del balance de aminoácidos hidrófobos/hidrófilos y del método empleado en su obtención (Angelmeir y Montgomery, 1982 citado por Villacrés, 2001).

d. Propiedades funcionales

Son características físico químicas intrínsecas de cada proteína que determinan las características de los alimentos en los cuales se encuentran o a los cuales son agregados. Son propiedades utilizadas en la formulación de alimentos (López, 2013)

Así (Cheftel et al., 1989 citado en Pincioli, 2010) define las propiedades funcionales como “toda propiedad no nutricional que imparte a un alimento o ingrediente determinadas características sensoriales o determinado comportamiento físico, durante su preparación, procesamiento, almacenamiento o consumo”.

Las propiedades funcionales son un reflejo de las propiedades intrínsecas de la proteína. Estas dependen del tamaño molecular, forma, composición aminoacídica, secuencia, carga y distribución de la misma, estructura

secundaria (α -hélice, β -plegada y estructuras aperiódicas), ordenamientos terciarios y cuaternarios de los segmentos peptídicos, cross-linking intra e inter cuaternarios, relación hidrofobicidad/hidrofilicidad y relación rigidez/flexibilidad en respuesta a las condiciones externas. Estas propiedades pueden ser alteradas por diversos factores tales como condiciones de procesos, métodos de aislamiento, factores ambientales (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica del medio), interacción con otros componentes (agua, iones, lípidos, hidratos de carbono, proteínas), concentración de la proteína, modificaciones sufridas por métodos físicos, químicos y enzimáticos, entre otros (Pincioli, 2010). Además la autora nos dice que “no solo son importantes en definir la calidad del producto final, sino también en facilitar el proceso de producción”.

(Chel, Corzo y Betancur, 2003) también afirma que en la elaboración de alimentos procesados, las proteínas, como grupo o individualmente, son de gran importancia por sus propiedades físicas, químicas y funcionales, que proporcionan productos de buena calidad y facilitan su procesamiento.

Las características fisicoquímicas y las interacciones con otros componentes en el alimento, determinan el valor de una proteína dentro de un sistema alimenticio. Por consiguiente, para ser utilizadas en aplicaciones alimentarias las proteínas deben tener, en adición a su valor nutricional, ciertas propiedades funcionales que le confieran capacidad para suministrar textura, estabilidad física y otras condiciones deseables en el producto donde se incorporen (Yildirim et al., 1996; Britten y Lavoie, 1992 citado por Gonzales, 1999).

Varios estudios se han realizado sobre la obtención de concentrados y aislados proteicos de fuentes vegetales, así como también acerca de la evaluación de propiedades funcionales de los mismos; lo cual ha conducido a un incremento sin precedentes en la producción y uso de esos materiales como ingredientes y en la fortificación de alimentos. (Gonzales, 1999)

Entre las propiedades fisicoquímicas de la proteína encontramos las siguientes:

- **Capacidad de absorción de agua**

La capacidad de absorción de agua es la aptitud de un material hidratado a retener agua frente a la acción de una fuerza externa de gravedad centrífuga o de compresión y comprende la suma del agua enlazada, agua hidrodinámica y agua físicamente atrapada, siendo ésta la que contribuye en mayor proporción que las otras dos. (Chel et al., 2003).

La absorción de agua y aceite son importantes características funcionales que afectan a la calidad del alimento. La primera mejora la textura del alimento, aunque altos niveles de absorción de agua no tienen por qué ser positivos, ya que un material con una alta absorción puede embeber una desproporcionada cantidad de agua y deshidratar otros componentes del sistema. (Gonçalves, 1997).

La capacidad de los ingredientes proteicos de absorber y retener agua juega un importante papel en la textura de diversos alimentos especialmente en masas horneadas (Cheftel *et al.*, 1993; citado por Pincioli, 2010).

- **Capacidad de absorción de aceite**

La absorción de agua y grasa son propiedades funcionales básicas de los componentes proteicos los cuales determinan la calidad (textura, apariencia, retención de sabor) y rendimiento de productos cárnicos terminados, así como de muchas otras preparaciones alimenticias (Vani y Zayas, 1995 citado por Gonzales, 1999).

A veces resulta conveniente que los ingredientes proteicos deshidratados adsorban cierta cantidad de aceite y la retengan. Esta propiedad es esencial en la formulación de sistemas alimentarios como salchichas, batidos, mayonesas o aderezos salados. La materia grasa en un alimento es fundamental para aumentar la palatabilidad del mismo (Cheftel *et al.*, 1993; citado por Pincioli, 2010).

Esta capacidad de los concentrados proteicos de enlazar lípidos es muy importante para la formación de productos para freír y para la retención de los sabores (Granito, Guerra, Torres y Guinand., 2004; citado por Marrugo, Montero y Durán., 2016).

La absorción de aceite es también un parámetro positivo, ya que la grasa absorbida protege frente a la desnaturalización térmica. Los aminoácidos hidrófobos van a ser los principales puntos de interacción entre lípidos y proteínas. (Mansour *et al.*, 1992; Xu *et al.*, 1994 citado por Gonçalves, 1997). Así también la energía de interacción proteína – lípido alcanza su valor máximo alrededor del punto isoeléctrico de la proteína, debido a que las interacciones hidrofóbicas juegan un papel importante en este fenómeno (Cheftel *et al.*, 1989 citado por Avila, 2011).

- **Solubilidad**

La solubilidad en agua de los materiales proteicos es de gran importancia en Tecnología de los Alimentos. Aunque por sí misma esta propiedad sólo tiene aplicación directa en la elaboración de bebidas y productos similares; sin embargo, debe siempre ser determinada puesto que incide sobre otras propiedades como, por ejemplo, la emulsificación, gelificación, formación de espuma, etc. Por eso ha sido usada como una medida para otras propiedades funcionales y su valoración da una información ponderable sobre la proteína como ingrediente. (Gonzales, 1999). Para ser soluble, la proteína debe, por consiguiente, interaccionar tanto cuanto sea posible con el disolvente (puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo, e interacciones iónicas). La solubilidad depende de factores como el pH, la fuerza iónica y la temperatura, entre otros. (Pincioli, 2010).

(Hermansson, 1979 citado por Gonzales, 1999) También nos afirma que la solubilidad es el resultado del balance entre fuerzas subyacentes proteína-proteína e interacciones proteína-solvente; lo cual implica que se establezca una fuerte interacción proteína-solvente para que el material proteico se solubilice en alto grado, de lo contrario se favorecerá la asociación proteína-proteína que disminuye la solubilidad e incluso puede provocar la precipitación.

2.4. CONCENTRADO PROTEICO FOLIAR

La disponibilidad de fuentes proteicas vegetales junto con la tendencia a reducir la ingesta de proteínas animales, hace que en los últimos años se esté produciendo un gran desarrollo en los procesos de extracción y mejora de proteínas vegetales para su uso en la alimentación humana. Se denominan concentrados proteicos a productos alimenticios sólidos o semisólidos conteniendo entre 60 y 80% de proteína (Pincirolí, 2010).

Los aislados de proteína son producidos al eliminar las fracciones de hidratos de carbono soluble e insoluble de la harina de un producto desengrasado a través de la precipitación de la proteína y lavados múltiples (Campano, 2002 citado en Munive 2009)

Los concentrados de proteínas de hoja deben considerarse seriamente como una fuente adicional de proteínas, por ejemplo los concentrados de proteína de alfalfa son preparados en una gran escala comercial en Europa y los EEUU. (Mejía, 2009). Además las ventajas de estos ingredientes proteicos es que permite su inclusión en formulaciones adecuadas a distintos requerimientos (Vioque *et al.*, 2001 citado en Pincirolí, 2010).

El nitrógeno y el contenido de aminoácidos del concentrado proteico de hojas son comparables a las de proteína de alta calidad. Los concentrados de proteínas de hojas contienen valores más altos de metionina que las semillas de soja y los valores más altos de lisina que el maíz. Este concentrado de proteínas también contiene valores más altos de aluminio y hierro que la mayoría de los alimentos comunes (Oke, 1972 citado por Tangka, 2003)

(Oke, 1972 citado por Tangka, 2003) declaró que las hojas verdes son potencialmente la fuente más abundante de proteína comestible debido a que forman el asiento de la síntesis de proteínas en la naturaleza.

Además (Tangka, 2003)) indica que también son la fuente más barata de proteína comestible, y la forma más sencilla de explotar esta proteína es comer muchas verduras de hoja verde, pero esto no es posible y por ende esta proteína, tiene que ser extraído con el fin de evitar el consumo de fibras de celulosa innecesario

2.4.1. ANTECEDENTES

En los últimos años se han realizado concentrados proteicos a partir de fuentes vegetales como, Alfalfa por (Cortes y Gallardo, 2005), donde el método utilizado por el autor le permitió recuperar el 92% de proteína, el cual consistía utilizar como materia prima el jugo de alfalfa, ajustando el pH al punto isoeléctrico de la proteína y aplicar un tratamiento térmico.

(Urribarrí, Ferrer y Colina, 2004) Realizaron una investigación en obtener un concentrado a partir del pasto elefante enano con contenido proteico de 27,93% que es limitante en fenil alanina y metionina.

(Mejía, 2009) obtuvo un concentrado proteico foliar de zanahoria con un contenido de 43.8% de proteínas para posteriormente elaborar unas galletas enriquecidas con este, concluyendo que es posible realizar una sustitución de un máximo de 10%, sin embargo una sustitución de 5% permitió aceptabilidad por los panelistas.

(García, 2013) investigó acerca potencial biotecnológico de las proteínas de la fracción vegetal del amaranto en donde determino la albúmina-1 está presente en la fracción vegetal del amaranto y que podrían ser fuentes potenciales de péptidos inhibidores de la angiotensina I.

(Tamayo et al., 2016) evaluó el contenido proteico de la remolacha azucarera en donde obtuvo un concentrado con 68.9% de proteínas, además nos dice deberían explorarse las hojas verdes como alternativas a hacer fracciones de proteína pura.

Adeyemi O. (2016). En su estudio sugiere que el Jacinto de agua es una buena fuente de concentrado de proteína de hoja (LPC) ya que es nutritivo y no tiene rasgos de toxicidad, además que presentaba 17 de 20 aminoácidos.

(Ngugi et al., 2017) en su investigación obtiene un concentrado proteico de la variedad *Amaranthus Hybridus* por extracción térmica, con un 36.42% de proteína para una edad de 25 días después de un trasplante al campo, del cual se rescata que la especie *Amaranthus* tiene alto valor nutricional que debe recibir considerable atención para su investigación

(Kaushik et al., 2004; Gatlin et al., 2007; Ngugi et al., 2017) Nos indican que varias plantas contienen cantidad apreciable de proteína con buen perfil de aminoácidos que puede reemplazar la harina de pescado durante la formulación de alimentación.

Desde el punto de vista ambiental, (Elghandour et al., 2017) nos indica que es posible reemplazar la harina de soja por harina foliar de *Moringa Oleífera* en las dietas de una simulación de fermentación ruminal la cual normalmente emite fuertes cantidades de CH₄; es por ello que esta sustitución se considera como una estrategia potencial – sostenible para reducir la producción de CH₄ de cabras y novillos, y así mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero.

Además en los últimos años se han desarrollado tecnologías que se han buscado aplicarlas en investigaciones sobre la concentración de proteínas de hojas, tal es el caso para el concentrado a partir del jugo de alfalfa (Zhang, Ding, Grimi, Jaffrin

y Tang, 2017) donde utilizan una Membrana de Ultra filtración de disco rotatorio para la separación y concentración de proteína.

2.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción de proteínas de la hoja implica tres pasos principales: interrupción del tejido por tratamientos mecánicos, precipitación de proteínas por uno o más calor y / o tratamientos de pH y concentración de proteína (Coldebella et al, 2013 citado en Tamayo et al., 2016).

(Martínez, Chávez, Olvera y Abdo de la Parra, 1996) nos indican que; el contenido de proteína foliar seco es elevado, pero depende principalmente del método de extracción.

Para ello se estudia 2 métodos de extracción; Hidrolisis básica – ácida y Ex. Térmica.

2.5.1. HIDROLISIS BÁSICA - ÁCIDA

La hidrólisis básica se realiza en disoluciones concentradas de hidróxido de sodio, NaOH. Este tipo de hidrólisis produce la racemización de todos los aminoácidos (Lehninger, 1984 citado por Flores, Caballero y Moreira, 2008).

La hidrólisis ácida consiste en un proceso químico que, mediante el empleo de catalizadores ácidos, transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales. Este tipo de hidrólisis puede realizarse empleando diferentes clases de ácidos como el ácido sulfuroso, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico y fórmico. Sin embargo, sólo los ácidos clorhídrico y sulfúrico han sido empleados a escala industrial. (Galbe y Zacchi, 2002 citado por Oliva, 2003). En el trabajo de investigación se hará el uso de estas dos hidrólisis por lo que el método será hidrolisis básica-ácida; donde con la hidrólisis básica

primero se busca la racemización de todos los aminoácidos y luego con el uso de un ácido precipitar las proteínas para facilitar su extracción.

2.5.2. MÉTODO POR EXTRACCIÓN TÉRMICA

Un procedimiento para el concentrado de proteínas es mediante una extracción térmica, la cual consiste en hacer coagular las proteínas a temperaturas de 60 °C aproximadamente.

La gelificación es la propiedad que posee determinados biopolímeros (proteínas y polisacáridos) de formar un enrejado estructural que mantiene la forma, posee una cierta rigidez mecánica y permite absorber (atrapar) moléculas de agua (Kinsella, 1989 citado por Rodríguez, 2002). Las proteínas en disolución, cuando se calientan por encima de una determinada temperatura crítica, manifiestan importantes cambios estructurales y cuando, posteriormente, se enfrían producen un gel viscoso y blando y coágulos opacos o geles viscoelásticos claros, dependiendo del tipo de proteína, de la velocidad de calentamiento y de las condiciones del medio acuoso, especialmente del pH y de la presencia de iones Ca^{++} (Cayot, 1997, Dickinson, 1992, Ziegler, 1990 citado por Rodríguez, 2002).

Estudios realizados por (Cortes y Gallardo, 2005) han mostrado que las mejores condiciones de temperatura para la obtención de un concentrado proteico de alfalfa, son entre 70 – 80°C.

(Ngugi et al., 2017) en su investigación obtiene el concentrado proteico de hojas de *Amaranthus* a partir de este método, pero con la diferencia que utilizó equipos de uso semi industrial.

Una de las desventajas de este método es que requiere ser procesado inmediatamente, ya que una vez cosechado inicia su proceso de deterioro, y esto

está sustentado por (Quintana J. y Alvarado A, 2013) que nos dice que el uso de la harina de hoja es una alternativa ya que tiene un periodo mayor de conservación y almacenamiento que son condiciones para su uso posterior en el proceso de transformación, mientras el a partir de hoja fresca requiere una manipulación rápida de extracción y precipitación por la rápida depreciación de los tejidos vegetales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. EQUIPOS

- Equipo Kejdhal marca FOSS Kjeltec 8100
- Soxhlet System FOSS 2043
- Balanza analítica marca PRECISA LX220A SCS
- Mufla Barstead/ Thermolyne Furnace 1400
- Licuadora Oster
- Estufa POL – EKO Aparatura
- pH- metro marca Thermo Scientific
- Agitador Magnético IKA C – MAG HS7
- Centrifuga Refrigerada marca SIGMA 4 – 16 KS
- Vortex marca IKA MS 3 digital
- Cocinilla eléctrica

3.1.2. REACTIVOS

- Ácido Sulfúrico Q.P.
- Ácido Clorhídrico al 0.5 N y 0.1 N
- Ácido Bórico
- Hidróxido de Sodio al 0.5 N
- Pastillas de K₂SO₄, CuSO₄ x 5H₂O
- Éter de Petróleo Q.P

3.2. MÉTODOS

3.2.1. OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se realizó la siembra de kiwicha en una parcela de 144 m² (18 m x 8 m) ubicado en el campus I de la Universidad Nacional del Santa y a partir de ella obtener la materia prima para cada etapa vegetativa.

a. Preparación del terreno y siembra

La parcela fue acondicionado con un sistema de riego tecnificado, permitiendo una mejor distribución del agua para su riego como se observa en la figura 22 del Anexo 1.

Debido al tipo de tierra, en la preparación del terreno se usó estiércol, humus, nitrato de amonio (fuente de nitrógeno), fosfato de amonio (fuente de fósforo) y sulfato de potasio (fuente de potasio). El terreno preparado fue regado durante 3 días frecuentemente y luego se realizó la siembra de kiwicha utilizando el método de chorro continuo como se observa en la figura 23 del Anexo 1. En el momento en que empezaron a germinar las primeras plantas de kiwicha, el riego se realizó una vez al día por una hora aproximadamente, dependiendo de las condiciones climáticas.

A los 20 días después de haber sembrado, se realizó el raleo, lo que permite disminuir un poco la densidad de plantas en la parcela evitando la competencia de nutrientes entre ellas. Finalmente las hojas de kiwicha fueron cosechadas a los 30, 60, 90 y 120 días de la siembra.

3.2.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE LAS HOJAS DE KIWICHA

a. Caracterización física

Se midió la altura de la planta y panoja de la kiwicha en la etapa vegetativa en donde apareció.

b. Caracterización química

Las hojas de kiwicha se dejaron secar en una estufa a 45°C durante 48 horas. Posteriormente, el material seco se molió en un molino eléctrico casero y se tamizó hasta lograr obtener un polvo con un tamaño de partícula de 0.1 cm, donde se obtuvo la harina de hojas de kiwicha.

b.1. Análisis proximal

Se realizó análisis de Humedad, Proteínas, Grasas y Cenizas según lo establecido por la (AOAC, 1995) y carbohidratos por diferencia.

3.2.3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

a. Hidrólisis química

a.1. Acondicionamiento de la Materia Prima

Las hojas de kiwicha fueron seleccionadas, descartando las hojas maltratadas y marchitas; luego se lavaron y desinfectaron con una solución de NaOCl a 100 ppm y por último se enjuagó con abundante agua. A continuación se secaron a 45 °C por 48 horas en una estufa; las hojas secas se molieron y se tamizaron hasta obtener la harina de hojas de kiwicha; el cual se envasó en bolsas de polietileno de alta densidad.

En la figura 10 se detalla el procedimiento del acondicionamiento de la materia prima para el método de hidrólisis química

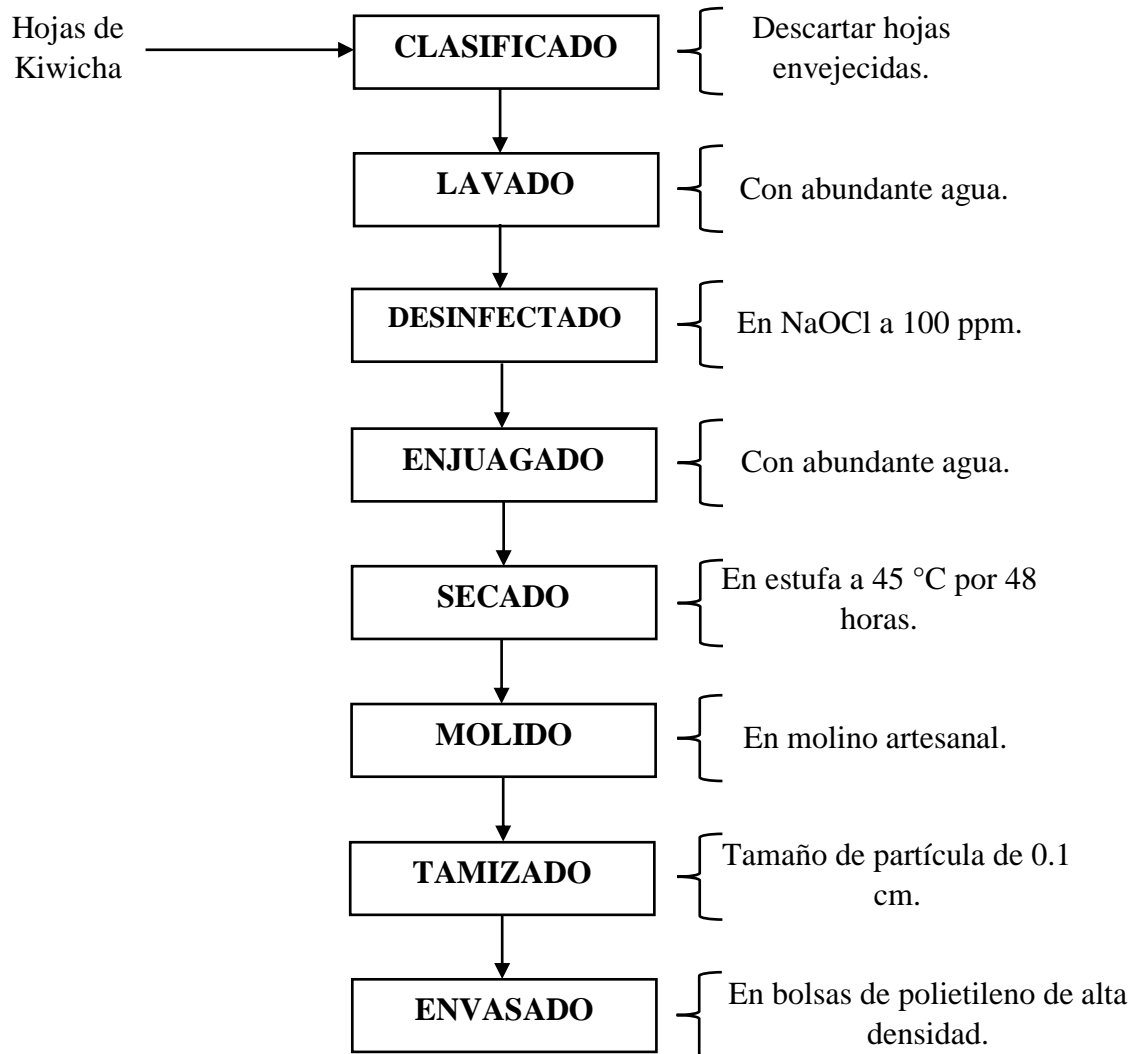


Figura 10: Diagrama de flujo del proceso de acondicionamiento de la materia prima para la hidrólisis química

- **Clasificado**

Se clasificó las hojas de kiwicha de acuerdo a cada etapa vegetativa descartando las hojas envejecidas y maltratadas.

- **Lavado**

Se lavó con abundante agua eliminando restos de polvo y suciedad.

- **Desinfectado**

La desinfección se realizó utilizando NaOCl a 100 ppm.

- **Enjuagado**

Luego de haber desinfectado, se enjuagó con abundante agua para asegurar que no quede rastros de NaOCl

- **Secado**

Las hojas se secaron a 45 °C por un tiempo de 48 horas en una estufa.

- **Molido**

Las hojas secas se molieron en un molino artesanal con mucho cuidado para evitar que gane humedad.

- **Tamizado**

Se tamizó hasta obtener una harina con un tamaño de partícula de 0.1 cm.

- **Envasado**

Por último, se envasó en bolsas de polietileno de alta densidad.

a.2. Obtención del concentrado proteico

La harina de hojas de kiwicha se lavó 2 veces con etanol al 20% para reducir los contenidos de polifenoles; luego se dejó secar a 50°C por 1 hora con la finalidad de volatilizar el alcohol. Se homogenizó con agua destilada en una proporción de harina: agua (1:10).

Se realizó la hidrólisis básica con NaOH al 0.5 N hasta llevar a un pH de 11. Posteriormente se prensó manualmente con una tela de organza nylon eliminando la torta; el líquido filtrado se centrifugó a 3500 RPM por 30 minutos en una centrifuga refrigerada marca Sigma.

Al sobrenadante obtenido después del centrifugado se realizó la hidrólisis ácida llevándolo a un pH de 4 con HCl al 0.5 N con la finalidad de precipitar las proteínas. Nuevamente se centrifugó a 3500 RPM por 30 minutos; se descarta el sobrenadante y el precipitado se seca a 45 °C por 18 horas en una estufa. En la figura 11 se muestra el diagrama de la obtención del concentrado proteico mediante la hidrólisis química

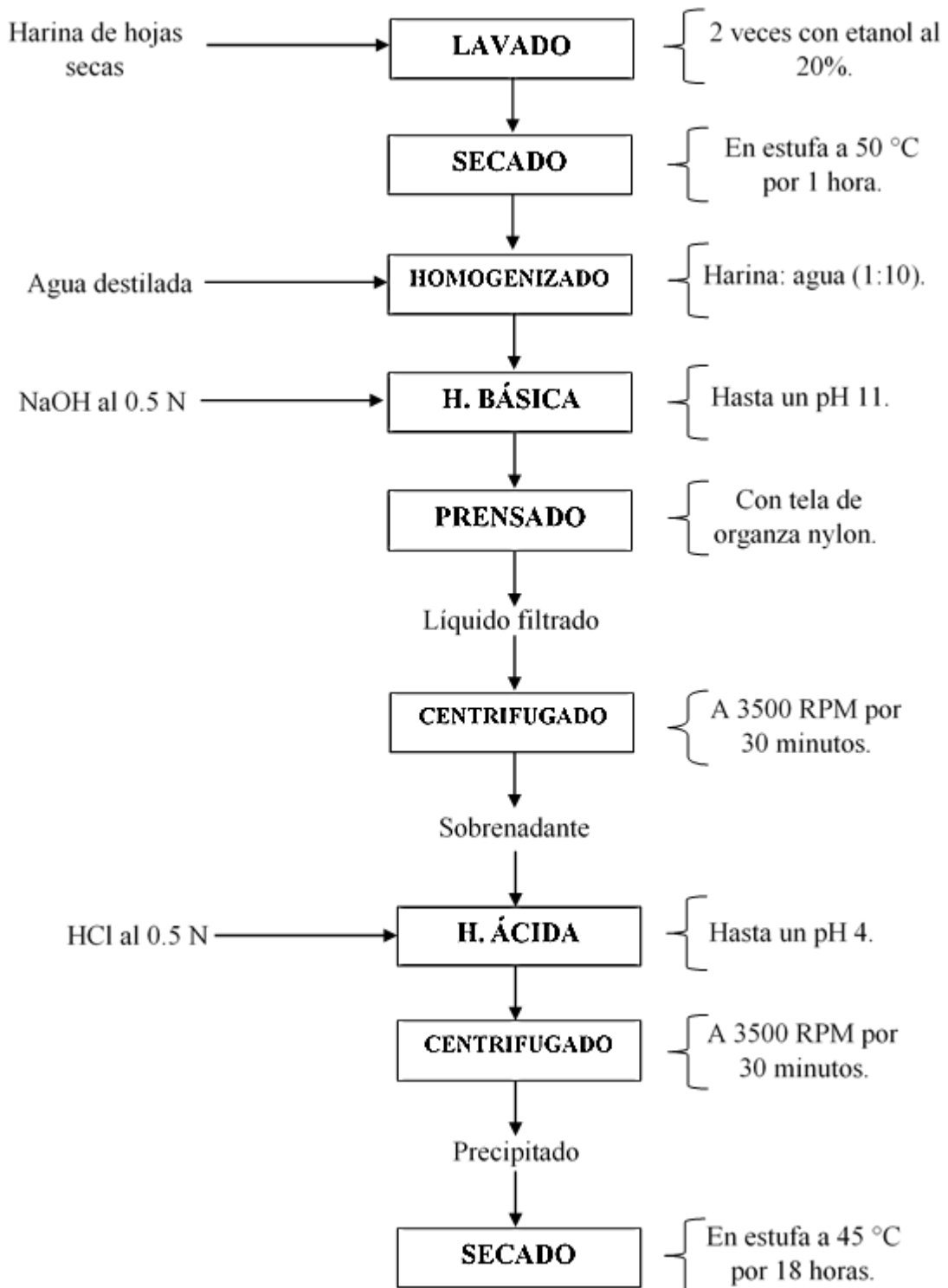


Figura 11: Diagrama de flujo de la obtención del concentrado proteico mediante la hidrólisis química

- **Lavado**

La harina de hojas de kiwicha se lavó 2 veces con alcohol al 20% para eliminar los restos de polifenoles.

- **Secado**

Se secó a 50 °C por un tiempo de 1 hora con la finalidad de volatilizar los restos de alcohol presente en la harina.

- **Homogenizado**

La harina se homogenizó con agua destilada en una proporción de harina: agua de 1:10.

- **Hidrólisis básica**

La solución se llevó a un pH de 11 utilizando NaOH al 0.5 N.

- **Prensado**

Se prensó de manera manual utilizando una tela de organza nylon, eliminando la torta que quedó después del prensado.

- **Centrifugado**

El líquido que se obtuvo después del prensado, se centrifugó a 3500 RPM por 30 minutos, eliminando el precipitado y quedándose con el sobrenadante.

- **Hidrólisis ácida**

La solución se llevó a un pH de 4 (hasta su punto isoeléctrico) utilizando HCl al 0.5 N con la finalidad de hacer precipitar las proteínas.

- **Centrifugado**

Nuevamente se centrifugó a 3500 RPM por un tiempo de 30 minutos eliminando el sobrenadante y quedándose con el precipitado (concentrado proteico).

- **Secado**

Por el último el precipitado obtenido después de la centrifugación, se secó a 45 °C por un tiempo de 18 horas en una estufa; obteniendo como producto final el concentrado de proteínas seco.

b. Extracción térmica

b.1. Acondicionamiento de la Materia Prima

Las hojas de kiwicha fueron seleccionadas, eliminando las hojas maltratadas y marchitas, luego se lavaron y desinfectaron con una solución de NaOCl a 100 ppm; por último se enjuagó con abundante agua.

b.2. Obtención del concentrado proteico

El método de extracción térmica se realizó acorde con el método utilizado por (Cortez y Gallardo, 2005) en su investigación para obtención de concentrado proteico de alfalfa.

Las hojas frescas luego de ser lavadas y desinfectadas, se trituraron en una licuadora con agua destilada en una proporción de 1:3 (hojas: agua); luego se prensó manualmente empleando una tela de organza nylon para eliminar toda la torta. El líquido se calentó hasta precipitar las proteínas en un rango de temperatura de 60 – 70 °C durante 3 minutos y luego se

dejó enfriar hasta 25 °C. El precipitado se filtró en una tela de organza nylon y posteriormente se secó a 45 °C por 18 horas en una estufa. En la figura 12 se presenta el diagrama de flujo de la obtención del concentrado proteico por extracción térmica.

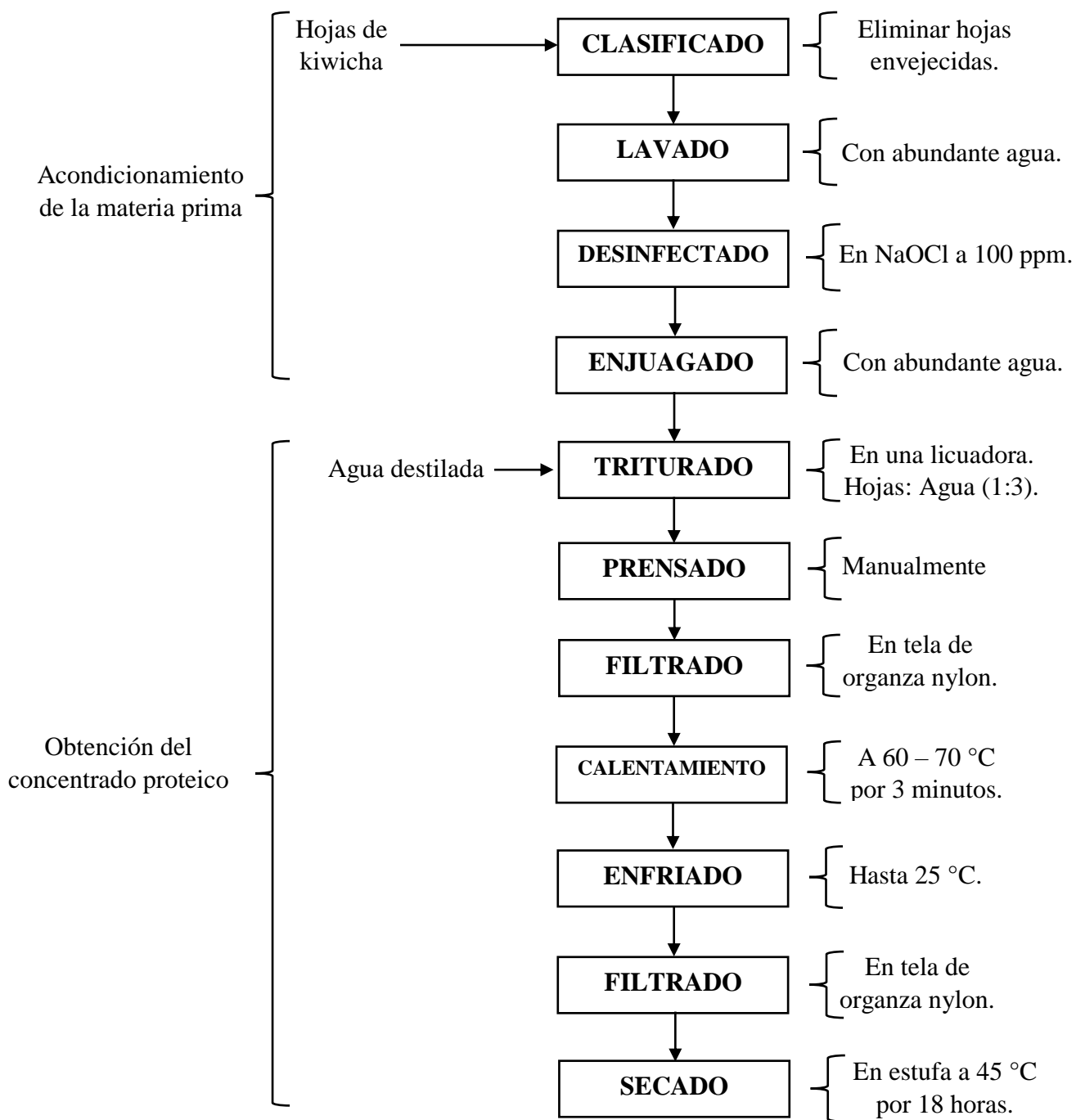


Figura 12: Diagrama de flujo para la obtención de un concentrado proteico mediante la extracción térmica

Acondicionamiento de la materia prima:

- **Clasificado**

Se clasificó las hojas de kiwicha de acuerdo a cada etapa vegetativa descartando las hojas envejecidas y maltratadas.

- **Lavado**

Se lavó con abundante agua eliminando restos de polvo y suciedad.

- **Desinfectado**

La desinfección se realizó utilizando NaOCl a 100 ppm.

- **Enjuagado**

Luego de haber desinfectado, se enjuagó con abundante agua para asegurar que no quede rastros de NaOCl

Obtención del concentrado proteico:

- **Triturado**

Las hojas se trituró utilizando una licuadora y añadiendo agua en una proporción de hojas: agua de 1:3.

- **Prensado**

Se prensó de manera manual con la ayuda de una tela con el fin de eliminar todo el bagazo (torta).

- **Filtrado**

El líquido obtenido después del prensado, se filtró en una tela de organza nylon con la finalidad de eliminar algún resto de sólidos que hubiese pasado durante el prensado.

- **Calentamiento**

El líquido filtrado se calentó con la finalidad de hacer precipitar las proteínas en un rango de temperatura entre 60 – 70 °C por un tiempo de 3 minutos.

- **Enfriado**

Luego que se calentó la solución, se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 25 °C aproximadamente.

- **Filtrado**

La solución se filtró en una tela de organza nylon eliminando el sobrenadante y quedándonos con el precipitado (concentrado de proteínas).

- **Secado**

Por último, se retiró con mucho cuidado el precipitado de la tela organza nylon y se secó en una estufa a 45 °C por un tiempo de 18 horas obteniendo como producto final el concentrado de proteínas seco.

3.2.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL CONCENTRADO PROTEICO

a. Determinación de la capacidad de absorción de agua del concentrado

La capacidad de absorción de agua del concentrado proteico fue determinada por el método desarrollado por Naczki, 1985 citado en Ávila, 2011.

Se pesó 1 gramo del concentrado proteico en tubos de centrifuga de 15 ml y se dispersaron en 8 gramos de agua destilada. Cada 10 minutos se agitó el contenido de los tubos haciendo uso de un vortex, durante 30 segundos, durante un periodo total de 70 minutos. Los tubos fueron centrifugados a 2000 g durante 15 minutos a 25 °C.

Luego se decantó cuidadosamente el sobrenadante y se dejó drenando los tubos en posición invertida durante 10 minutos. Posteriormente fueron pesados los tubos de ensayo.

La capacidad de absorción de agua se obtiene mediante la siguiente ecuación y se expresa en g agua / g muestra.

$$C.A. Agua = \frac{P_f - (P_t + P_m)}{P_m}$$

Donde:

P_f : peso final del tubo en g.

P_t : peso del tubo en g

P_m : peso de la muestra en g.

En la figura 13 se presenta el diagrama de flujo de la capacidad de absorción de agua del concentrado proteico

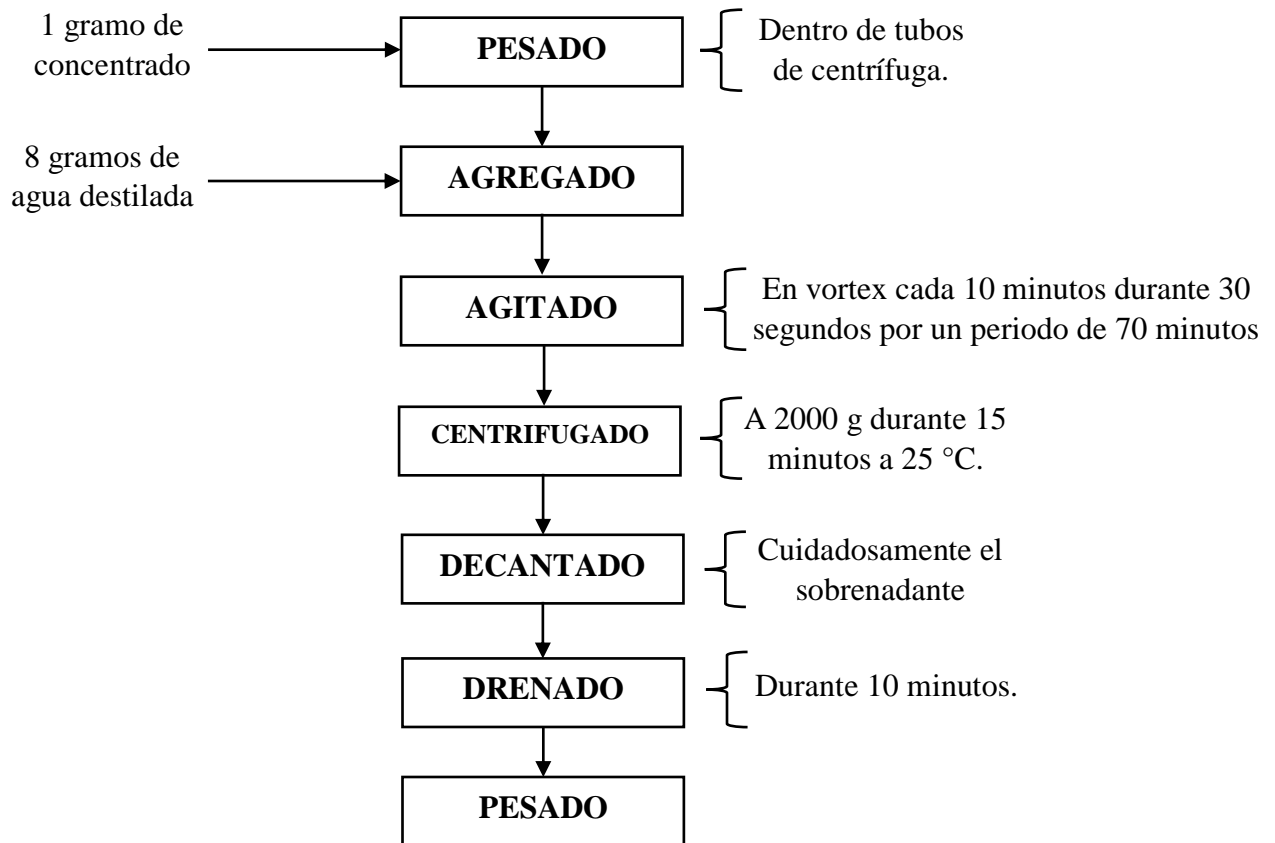


Figura 13: Diagrama de flujo de la capacidad de absorción de agua del concentrado proteico

- **Pesado**

Se pesó 1 gramo de muestra con mucho cuidado y lo más exacto posible dentro de tubos centrifugas; previamente se anotaron los pesos de los tubos.

- **Agregado**

Dentro del tubo de centrifuga con la muestra, se agregó 8 gramos de agua destilada.

- **Agitado**

La solución se agitó haciendo uso de un vortex, durante 30 segundos, durante un periodo total de 70 minutos.

- **Centrifugado**

Los tubos se centrifugaron a 2000 g por un tiempo de 15 minutos a 25 °C.

- **Decantado**

Se decantó el sobrenadante del tubo con mucho cuidado.

- **Drenado**

Los tubos se invirtieron y se drenó por un tiempo de 10 minutos.

- **Pesado**

Por último los tubos se pesaron y mediante la fórmula mencionada anteriormente se obtiene la capacidad de absorción de agua

b. Determinación de la capacidad de absorción de aceite del concentrado

La capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico fue determinada por el método desarrollado por Naczk, 1985 citado en Ávila, 2011.

El procedimiento experimental realizado fue idéntico al efectuado para determinar la capacidad de absorción de agua del concentrado proteico descrito anteriormente, con la diferencia que se utilizó aceite vegetal en vez de agua y las dispersiones aceite – concentrado fueron agitadas cada 5 minutos en vez de 10, por un periodo de 30 minutos.

c. Determinación del porcentaje de proteínas del concentrado

El porcentaje de proteínas se determinó según lo establecido por la (AOAC, 1995).

d. Perfil de aminoácidos del concentrado proteico

Se realizó mediante el análisis de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) en la Universidad Peruana Cayetano Heredia en la Unidad de Investigación en Productos Naturales. (Ver Anexo N°5 Constancia de análisis)

En la tabla 4 y 5 se presenta las condiciones cromatográficas de trabajo para el concentrado.

Tabla 4: Condiciones cromatográficas para el concentrado proteico de hojas de Kiwicha

Marca	Elite Lachrom-Hitachi
Detector	Arreglo de diodos DAD L-2455
Columna	Superspher RP-18 , 25 cm x 4.6x 4 um
Temperatura	Ambiente
	Elución:
Fase Móvil	A: 0.025 M KH ₂ PO ₄ , PH 7.0 B: Acetonitrilo
Velocidad de Flujo	1 ml/min
Volumen de inyección	5ul
Longitud de Onda	436 nm

Tabla 5: Gradiente de Fase Móvil

Tiempo (min)	% B
0	25
19	25
21	35
27	35
41	40
45	50
54	75
60	75

3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO DE LA INVESTIGACIÓN

Se trabajó con un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 4x2, es decir 8 tratamientos con 3 repeticiones; en donde los 2 factores categóricos fueron, los métodos de extracción (extracción térmica e hidrólisis química) y las etapas vegetativas (30, 60, 90 y 120 días); además, teniendo como variables de respuestas el porcentaje de proteínas, la capacidad de absorción de agua y la capacidad de absorción de aceites

El análisis de varianza y los gráficos de interacciones de las variables dependientes se realizó mediante el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV.II.

La figura 14 muestra el diagrama de flujo de todo el diseño estadístico experimental realizado al trabajo de investigación, el cual parte desde la materia prima, hasta los análisis fisicoquímicos a realizar.

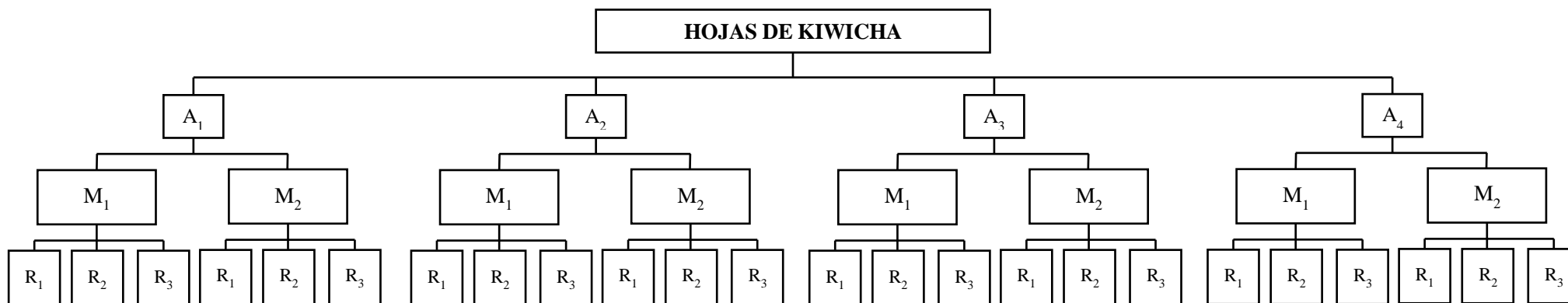


Figura 14: Diagrama de flujo del diseño estadístico experimental

Donde:

A₁: Etapa vegetativa a los 30 días.

A₂: Etapa vegetativa a los 60 días.

A₃: Etapa vegetativa a los 90 días.

A₄: Etapa vegetativa a los 120 días.

M₁: Método de extracción mediante hidrólisis química

M₂: Método de extracción térmica.

R₁: Porcentaje de Proteína.

R₂: Capacidad de Absorción de Agua.

R₃: Capacidad de Absorción de Aceite.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. EVALUACIÓN DE LA ALTURA DEL CULTIVO DE KIWICHA EN CADA ETAPA VEGETATIVA

Se realizó las mediciones de la altura de la planta de kiwicha para poder determinar el desarrollo de la planta en cada etapa vegetativo. La tabla 6 muestra las alturas promedios de la planta y panoja de la kiwicha en cada etapa vegetativa.

Tabla 6: Alturas promedios de la planta y panoja de la Kiwicha en cada etapa vegetativa

ETAPA VEGETATIVA	MEDICIONES		
	Planta (cm)	Panoja (cm)	Planta + Panoja (cm)
30	49.4000±4.2901	0.0000	49.4000
60	121.5400±8.2583	15.2600±9.8793	136.8000
90	155.7000±10.2124	43.4500±12.4369	199.1500
120	157.8000±14.2638	48.6300±15.8463	206.4300

En la tabla 6 se observa las mediciones realizadas a la planta y a la panoja de la kiwicha en sus cuatro etapas vegetativas. A los 30 días la planta no presenta panoja como se observa en la figura 27 del Anexo 2; según (Mora, 2008) es la fase en la cual las plántulas emergen del suelo y muestran sus dos cotiledones extendidos y en el surco se observa por lo menos un 50% de población en este estado; además, este estado puede durar de 8 a 29 días dependiendo de las condiciones agroclimáticas (INIA, 2011); es por esto que solo se obtuvo una medida de la planta de 49.4000±4.2901 cm.

Según (Mora, 2008) el ápice de la inflorescencia (panoja) es visible en el extremo del tallo. Este estado se observa entre 45 y 70 días después de siembra. El autor nos menciona que a los 45 días es donde comienza el crecimiento de la panoja; es por esto, que a los 60 días la Kiwicha ya contaba con panoja como se observa en la figura 28 del Anexo 2 cuya medida fue de 15.2600 ± 9.8793 cm; además, la planta presentó un desarrollo considerable con respecto a la altura que fue de 121.5400 ± 8.2583 cm.

Durante los 90 y 120 días existe poca diferencia entre las mediciones tanto de la planta como de la panoja como se puede apreciar en las figuras 29 y 30 del Anexo 2. Esta poca diferencia se debe a que el desarrollo de la kiwicha está enfocado en el grano que se encuentra dentro de la panoja; es decir, los nutrientes que antes la planta utilizaba para hacer crecer la planta y la panoja, lo está utilizando en convertir el grano lechoso a grano pastoso.

4.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS HOJAS DE KIWICHA

En la tabla 7 se reportan los resultados de la composición química proximal de las hojas de Kiwicha en base seca durante las 4 etapas vegetativas, donde los valores son obtenidos como promedio de 3 muestras con su respectiva desviación estándar.

Tabla 7: Análisis proximal de las hojas de Kiwicha en cuatro etapas vegetativas

Etapa Vegetativa	Componente				
	Humedad	Grasas	Proteínas	Cenizas	Carbohidratos
30	85.2375±0.0678*	2.3929±0.0158	26.1565±0.1425	14.6866±0.2119	50.9900
60	82.6851±0.1888*	2.4398±0.0499	26.4230±0.0888	16.3318±0.0503	50.0296
90	78.4146±0.1366*	2.4519±0.0952	19.7666±0.0535	18.1187±0.0482	56.0299
120	72.3757±0.1393*	2.5232±0.0208	11.3599±0.0109	20.3982±0.2225	63.0986

(*) Componente en Base Húmeda

En la tabla 7 se observa que el porcentaje de humedad y de grasa son inversamente proporcionales; es decir mientras la humedad disminuye, la grasa aumenta ligeramente. (Bressani, 1993) reporta en su investigación, la composición química de la hojas de kiwicha, el cual obtiene una humedad de 86.9%, mientras que en esta investigación se encuentra entre un rango de 85.2375 a 72.3757%, donde se observa que existe una ligera variación, la cual se atribuye que el autor no menciona en qué etapa vegetativa realizó el análisis, siendo este un factor muy importante a considerar ya que como se percibe en la tabla, la humedad y demás componentes varían conforme la planta se va desarrollando.

En el caso de las proteínas, este tiene un ligero aumento a partir de los 30 a 60 días, incrementándose en un 1.02 % lo cual se debe que antes de los 60 días se añadió nitrato de amonio (fuente de nitrógeno) y esto se refleja en el porcentaje de proteínas a los 60

días. También se observa que el valor máximo de proteínas fue de 26.4230 ± 0.0888 , para luego disminuir en los siguientes periodos vegetativos hasta 11.3599 ± 0.0109 .

En una investigación (Ramamurthy, 2006) determinó el porcentaje de proteína de la fracción foliar de la Kiwicha, obteniendo 28.63% a los 30 días de su etapa vegetativa y 20.48% a los 60 días; según este autor, el porcentaje de proteínas va disminuyendo a medida que se desarrolla la Kiwicha, lo cual comparado con los valores obtenidos en la investigación sucede el mismo comportamiento y se encuentran cercanos a los mencionados y esta ligera diferencia se debe a la variedad de la planta pero principalmente por las condiciones nutritivas que se le da a la planta, tales como el agregado de nitrato de amonio, fosfato de potasio, humus y entre otros. Sin embargo aun así los porcentajes de proteínas están cercanos a lo reportado por los autores.

4.3. ANÁLISIS PROXIMAL DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS

En la tabla 8 se muestra el análisis proximal del concentrado de proteínas de hojas de kiwicha obtenida mediante dos métodos de extracción en 4 etapas vegetativas.

Tabla 8: Análisis Proximal del Concentrado Proteico de Hojas de Kiwicha por ambos métodos de extracción y en sus 4 etapas

vegetativas

ANÁLISIS	MÉTODO DE EXTRACCIÓN	Etapas Vegetativas			
		30	60	90	120
% Humedad	E.T ¹	6.3437±0.2264	6.1705±0.2109	6.0769±0.0146	6.0084±0.3007
	H.Q ²	6.1428±0.0438	6.1337±0.0324	6.0849±0.0424	6.0492±0.0346
% Grasa	E.T ¹	8.7811±0.3877	8.9769±0.0711	9.3866±0.2448	9.66920±0.2880
	H.Q ²	8.4894±0.0521	8.8139±0.0346	9.0284±0.0286	9.3995±0.0241
% Ceniza	E.T ¹	14.1588±0.1854	16.1336±0.1325	17.4712±0.3908	19.2732±0.2342
	H.Q ²	6.9327±0.1370	7.3108±0.2840	7.9272±0.0679	8.3935±0.2480
% Proteínas	E.T ¹	53.2583±0.1388	49.6223±0.6266	35.4954±0.2511	29.1822±0.0799
	H.Q ²	50.1163±0.1574	41.7964±0.0850	30.5547±0.0963	17.4795±0.1304
% Carbohidratos	E.T ¹	17.4580	19.0967	31.5698	35.8670
	H.Q ²	28.3189	35.9453	46.4047	58.6782

E.T¹: Método de extracción térmica.

H.Q²: Método por hidrólisis química.

Como se observa en la figura 15, el porcentaje de humedad que presenta el concentrado proteico de hojas de kiwicha se encuentra en un rango de 6.3437 ± 0.2264 hasta 6.0084 ± 0.3007 y de 6.1428 ± 0.0438 hasta 6.0492 ± 0.0346 para la extracción térmica e hidrólisis química respectivamente.

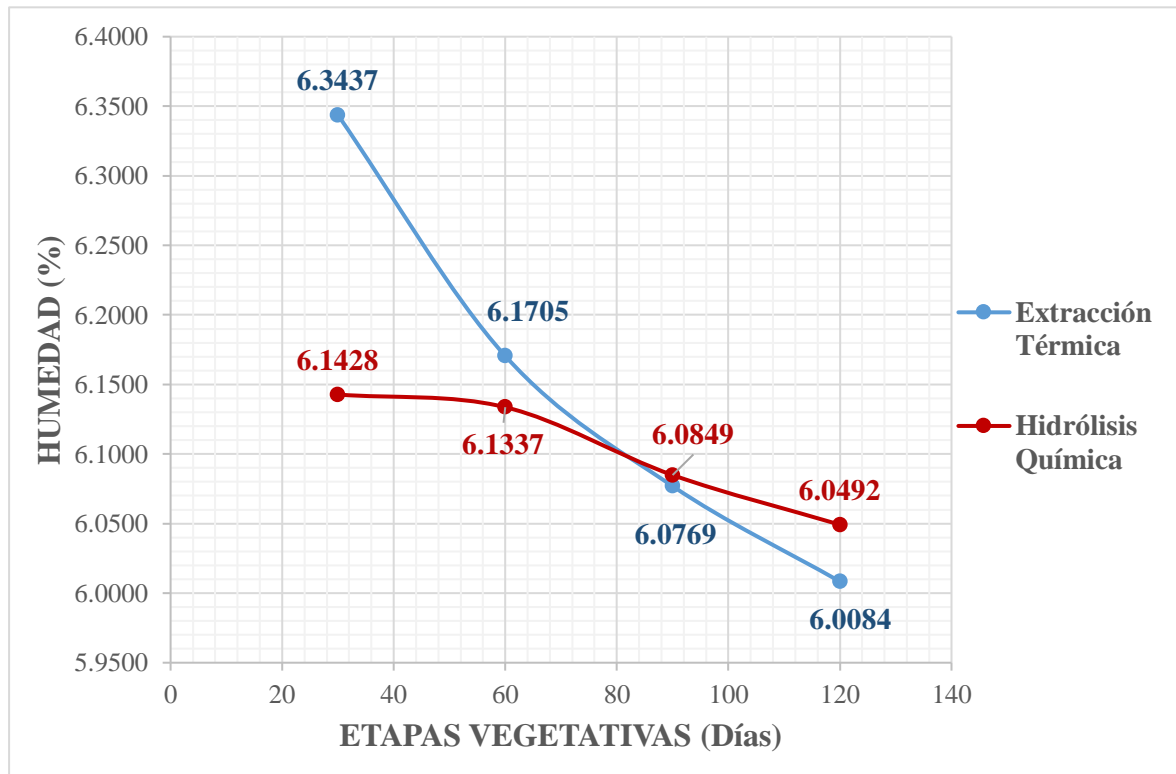


Figura 15: Porcentaje de humedad de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción

(Serpa, Hincapié y Álvarez; 2014) reportan en su trabajo de investigación un porcentaje de humedad del concentrado de proteínas a partir de hojas de Gmelina un valor de 6.78 ± 0.02 % en donde el método de extracción utilizado fue la de la hidrólisis química; además, (Mejía, 2009) reporta un porcentaje de humedad de un concentrado proteico obtenido a partir de hojas de zanahoria un valor 7.00 ± 0.68 utilizando la extracción térmica como método de extracción. Ambos autores presentan datos muy similares a los obtenidos en esta investigación; además, se puede observar que el mayor porcentaje de humedad lo presenta el concentrado proteico obtenido por el método de extracción térmica; en donde este comportamiento también se presenta en esta investigación. La ligera diferencia de porcentaje obtenidos en esta investigación se debe a que los concentrados proteicos de hojas de kiwicha obtenidos por ambos métodos fueron secados en una estufa a una temperatura de 45 °C por 18 horas, lo que significa que terminado este proceso de secado, dichos concentrados ya presentaban una humedad constante. Principalmente el objetivo del secado fue llegar a un rango de humedad que no permita la proliferación de microorganismo durante su almacenamiento.

En la figura 16 se observa que existe una mínima variación del porcentaje de grasa para cada etapa vegetativa en los concentrados proteicos de hojas de kiwicha; el mismo comportamiento se observa en la tabla 7, donde también hay un aumento no muy significativo del contenido de grasas en las hojas de kiwicha; esto posiblemente sucedió por el mismo proceso por el que fue sometida las hojas.

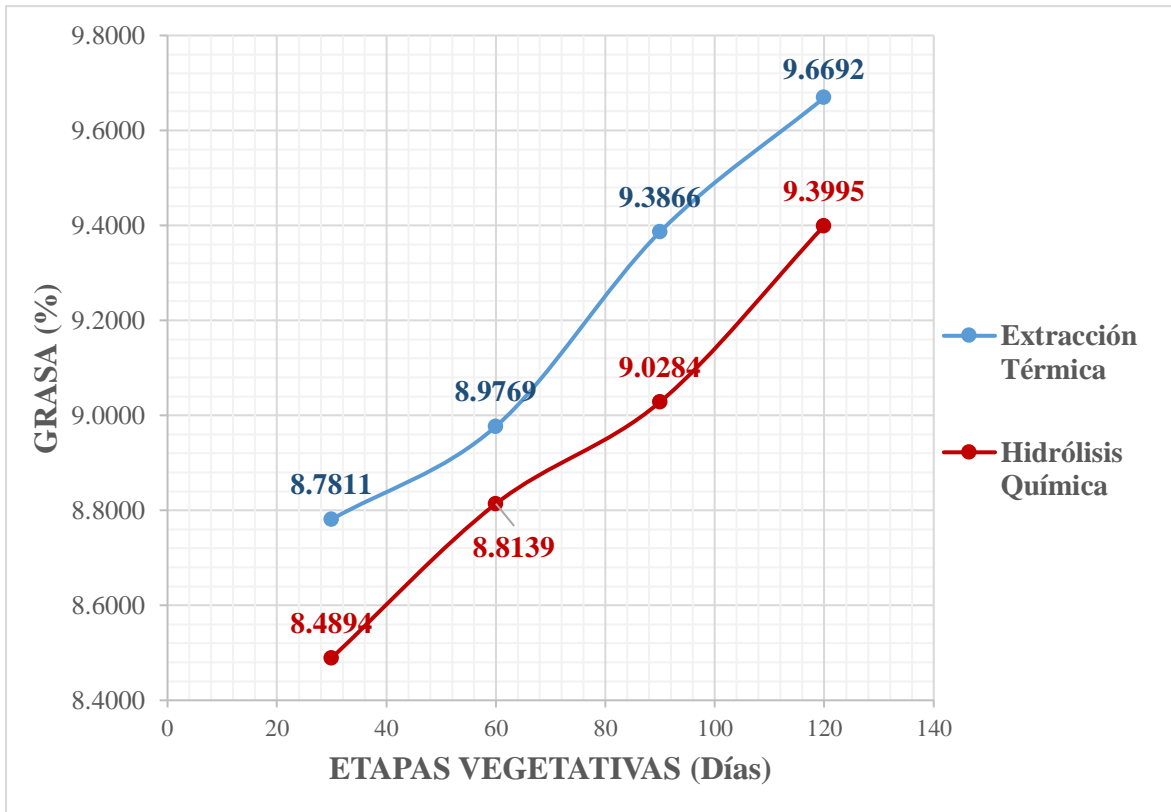


Figura 16: Porcentaje de grasa de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción

Por otro lado, también existe una variación entre ambos métodos; siendo el método por extracción térmica la que presenta mayores valores de porcentaje de grasa; (Mejía, 2009) cuyo trabajo de investigación fue la de obtener un concentrado de proteínas de hojas de zanahoria por el método de extracción térmica, nos menciona que una posible explicación para esto sería el hecho de que durante la coagulación de las proteínas los lípidos posiblemente son coprecipitados, concentrándose en el concentrado proteico gran parte de los lípidos totales; es por esto que el mayor porcentaje de grasa lo manifiesta los concentrados obtenidos por dicho método de extracción. Por último, (Marrugo et al., 2016) y (Mejía; 2009) reportaron un % de grasa de sus concentrado proteico tanto de *Vigna unguiculata* y de hojas de zanahoria valores de 0.78 ± 0.07 y 3.9 ± 0.1 respectivamente; para el caso de ambas hojas, estos porcentajes son bastantes bajas a

comparación con los concentrados proteicos que se obtuvo en esta investigación, donde el mínimo y el máximo valor fue de 8.4894 ± 0.0521 y 9.66920 ± 0.2880 respectivamente. Esta gran diferencia, con los resultados obtenido, se debió a que los autores mencionados anteriormente desgrasaron su materia prima antes de proceder con su método de extracción de proteínas.

En la figura 17 claramente se puede apreciar la gran diferencia que hay para cada método de extracción; en donde los valores de porcentaje de cenizas para la extracción térmica y la hidrólisis química se encuentra en rangos de 14.1588 ± 0.1854 – 19.2732 ± 0.2342 y 6.9327 ± 0.1370 – 8.3935 ± 0.2480 respectivamente.

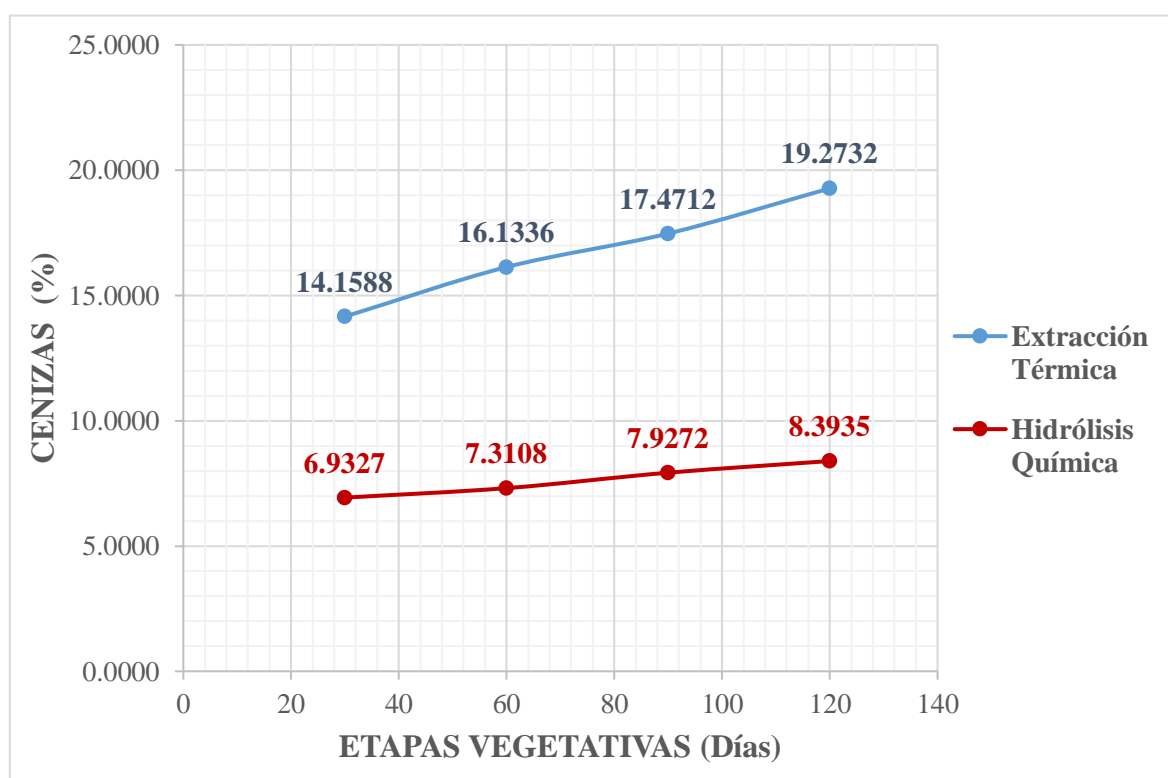


Figura 17: Porcentaje de ceniza de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción

El porcentaje de cenizas de los concentrados proteicos tienden a ir aumentando de la misma forma como sucedió en las hojas de kiwicha, además se observa que el concentrado obtenido por el método de hidrólisis química permite reducir el nivel de cenizas con el que inició la materia prima, mientras que en el otro método, los porcentajes de cenizas permanecen similares a los iniciales. (Serpa et al., 2014) obtuvieron concentrados de proteínas de hojas de jatropha por hidrólisis química y extracción térmica con porcentajes de cenizas de 10.64 ± 0.03 y 13.67 ± 0.04 respectivamente; y teniendo en cuenta que el porcentaje de cenizas de las hojas fueron de 14.92 ± 0.25 ; esto sin duda alguna nos indica que existe una gran pérdida de dicho porcentaje por el método de hidrólisis química.

(Ramírez; 2009) nos menciona que los elementos minerales contenidos en los extractos foliares representan un promedio de 13 a 14 % de la materia seca, y pueden ser parcialmente eliminados por lavado en ácido (pH 3.0 – 4.0); por otro lado, los minerales no son afectados por los tratamientos térmicos, la luz, el pH, el oxígeno, ni otros factores. Pero pueden perderse por lixiviación o por refinado (Miller; 2010 citado en Lupano; 2013). En esta investigación se utilizó dos métodos de extracción; la hidrólisis química y la extracción térmica; en donde el primer método fue precipitar las proteínas a su punto isoeléctrico (pH 4.5); debido a eso es que los minerales presente se perdieron y por lo tanto el porcentaje de cenizas del concentrado fue bajo en comparación a las hojas de kiwicha; mientras que, el segundo método consistió en hacer precipitar las proteínas por calentamiento térmico en un rango de temperatura de 60 – 70 °C y como lo indica (Lupano; 2013) anteriormente, los minerales no son afectados por tratamientos térmicos; es por esto que el porcentaje de cenizas permaneció similar a las hojas de kiwicha.

En la figura 18 se observa el porcentaje de proteínas del concentrado proteico de hojas de kiwicha en cada etapa vegetativa y por ambos métodos de extracción.

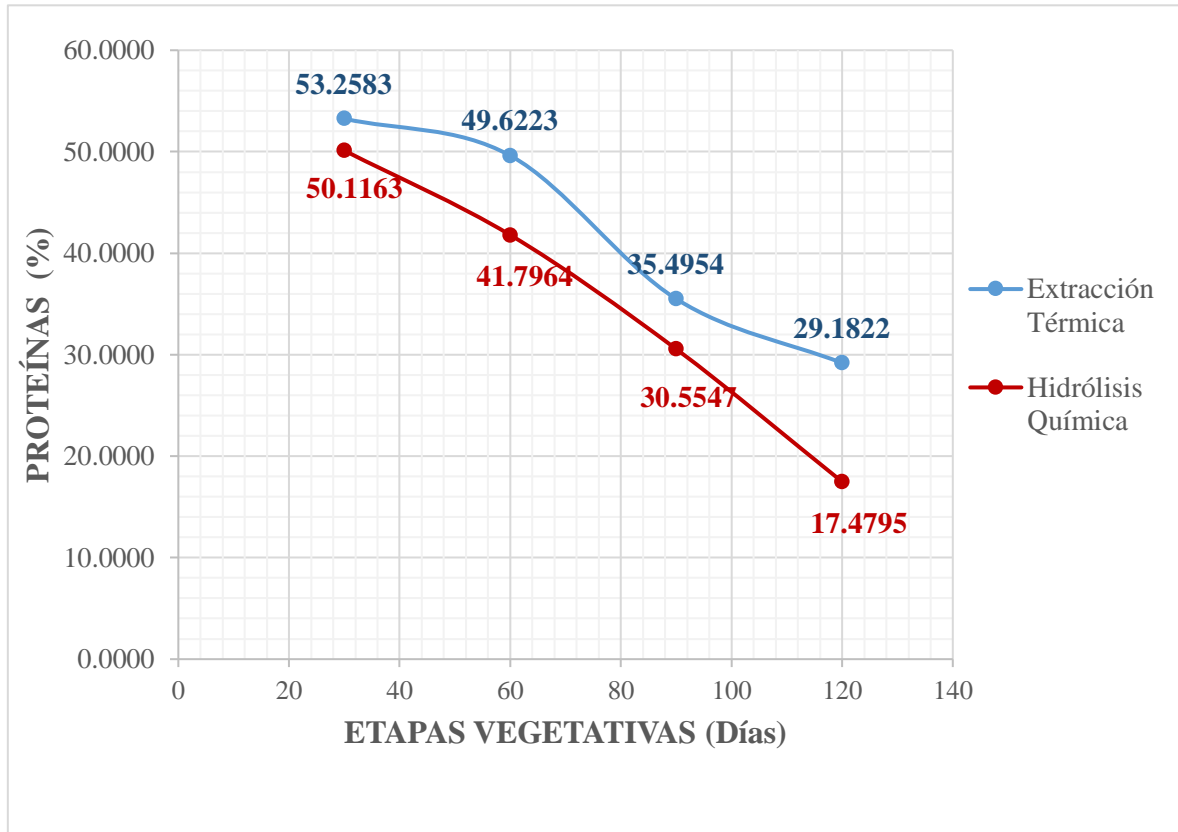


Figura 18: Porcentaje de proteínas de los concentrados de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción

El porcentaje de proteínas presente en el concentrado es inversamente proporcional conforme avanza las etapas vegetativas; además, el método por extracción térmica fue la que presentó los mayores valores de porcentaje de proteínas, encontrándose en un rango de 53.2583 ± 0.1388 – 29.1822 ± 0.0799 a comparación del otro método, cuyo rango de porcentaje de proteínas fue de 50.1163 ± 0.1574 – 17.4795 ± 0.1304 .

La figura 19 presenta el porcentaje de carbohidratos del concentrado de proteínas de hojas de kiwicha obtenidas por ambos métodos de extracción en cada etapa vegetativa.

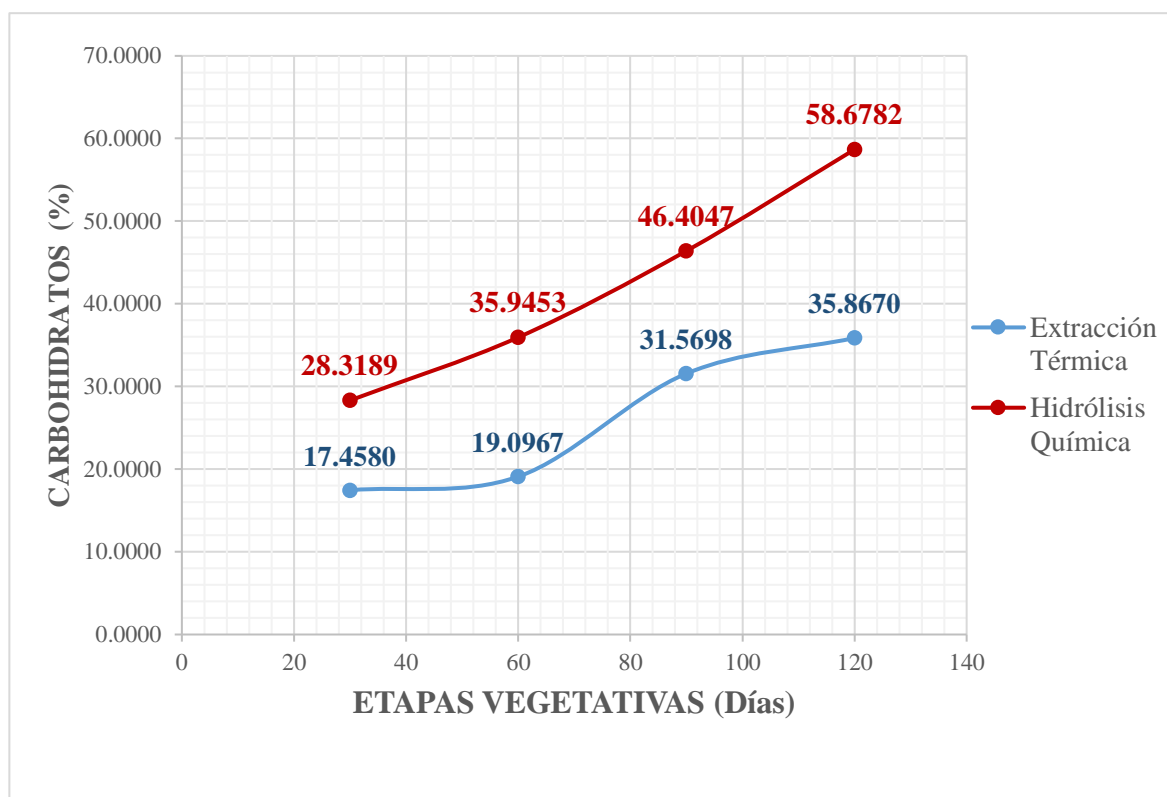


Figura 19: Porcentaje de carbohidratos de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción

En la figura 19 el porcentaje de carbohidratos del concentrado proteico es directamente proporcional a los días de las etapas vegetativas; esto se debe a que el comportamiento del porcentaje de proteínas de los concentrados es inversamente proporcional al de los carbohidratos; conforme avanza los días de las etapas vegetativas, la proteína presente en el concentrado va disminuyendo, y como consecuencia, aumenta la presencia de estos carbohidratos.

Comparando el contenido de carbohidratos del concentrado con las hojas de kiwicha; el método por extracción térmica permite reducir este porcentaje hasta un 53.60%; por otro lado, la hidrólisis química lo reduce en un 24.20%; esta reducción se debe a que al obtener

un concentrado de proteínas, se trata de eliminar en su gran mayoría la presencia de otros componentes; sin embargo, los resultados muestran que el método de extracción donde se reduce el mayor contenido de carbohidratos es la extracción térmica.

Por último, el contenido de carbohidratos del concentrado que se obtuvo por el método de extracción térmica e hidrólisis química estuvo en un rango de 17.4580 – 35.8670 y 28.3189 – 58.6782 respectivamente; siendo estos valores menores para el método por extracción térmica; una posible explicación a esto es porque el primer método utiliza una fuerza mecánica (como es el caso de la licuadora) rompiendo el tejido celular permitiendo con mayor facilidad la liberación de las moléculas de proteínas; además, luego de este rompimiento celular, se retiró el bagazo a través de un prensado y filtrado; de manera que el mayor contenido de carbohidratos también se eliminan con dicho bagazo; sin embargo, para poder eliminar los carbohidratos mediante el método por hidrólisis química, se tiene que llevar a un pH de 11 con NaOH al 0.5 N; por lo que se demuestra que este método no permite eliminar en su mayoría los carbohidratos.

4.4. RENDIMIENTOS EN LA OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA

En la tabla 9 se muestra los resultados de los rendimientos de extracción de los concentrados proteicos de hojas de kiwicha para ambos métodos de extracción y a sus 4 etapas vegetativas; cuyo valor se determinó de manera porcentual conociendo cuantos gramos de concentrado proteico se pudo obtener por cada gramos de hojas frescas utilizadas

Tabla 9: Rendimiento del concentrado de proteínas de hojas de kiwicha obtenido por ambos métodos de extracción y en cada etapa vegetativa.

ETAPAS VEGETATIVAS	RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN (%)	
	Extracción Térmica	Hidrólisis Química
	30	5.1037±0.8547
60	4.9538±0.7238	2.5913±0.8358
90	4.0258±0.8867	1.9905±0.7543
120	3.5325±0.8136	1.3527±0.5518

En la tabla 9 claramente se observa que para ambos métodos el rendimiento empieza a descender conforme avanza las etapas vegetativas; esto se debe, a que la disponibilidad de proteínas en las hojas de kiwicha también descienden conforme avanza las etapas vegetativas; sin embargo, el método con mayores rendimientos es la extracción térmica con un rango de 5.1037±0.8547 – 3.5325±0.8136; a comparación de la hidrólisis química cuyos rendimientos estuvieron en un rango de 2.7952±0.6386 – 1.3527±0.5518.

(Mejía; 2009) reporta un rendimiento de extracción de 5.20 ± 0.93 en un concentrado proteico de hojas de zanahoria, la cual lo obtuvo por extracción térmica; por otro lado, (Serpa et al., 2014) obtuvo un concentrado proteico de hojas de yuca con un rendimiento de extracción de 2.58 % utilizando la hidrólisis química. Los resultados de ambos autores nos indican que utilizando el método por extracción térmica se logra obtener un mayor rendimiento; del mismo modo sucede en los valores de rendimiento de extracción de esta investigación.

Una posible explicación a esto se debe a que la extracción de las proteínas de hojas dependerá en gran parte, del grado de desintegración celular, que afecta la cantidad de proteína que se obtenga durante el proceso; esto porque, cuanto mayor es el rompimiento, mayor es la destrucción de las paredes de la célula y, consecuentemente mayor cantidad de proteínas serán obtenidas en el jugo (Pirie; 1987 citado en Mejía; 2009); de manera que en el método de extracción térmica se utilizó una licuadora para poder romper la paredes celular de las hojas y como lo afirma el autor, cuanto mayor es el rompimiento, mayor cantidad de proteínas serán obtenida y por ende el rendimiento de extracción será mayor.

Además es importante mencionar que según (Nieto, 1990 citado en citado en López; 2015) en lo que se refiere al rendimiento en *A. caudatus* se han obtenido alrededor de 30 t/ha de materia verde a los 30 días y alrededor de 60 t/ha a los 60 días, también con porcentajes de hojas superiores al 40%; es decir 12 y 24 t/ha de hojas a los 30 y 60 días respectivamente. Lo que significa que con los rendimientos obtenidos en este trabajo de investigación se puede obtener hasta 612 y 1189 Kg de concentrado/ha a los 30 y 60 días respectivamente para el método de extracción térmica; también, valores de 335 y 622 Kg de concentrado/ha mediante el método por hidrólisis química a los 30 y 60 días respectivamente.

4.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA

4.5.1. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA

En la tabla 10 se muestra los resultados obtenidos para la capacidad de absorción de agua en gramos de agua por cada gramo de muestra del concentrado proteico de hojas de kiwicha durante las 4 etapas vegetativas y por los dos métodos de extracción.

Tabla 10: Capacidad de absorción de agua del concentrado proteico de ambos métodos para cada etapa vegetativa

Etapa Vegetativa (Días)	Capacidad de Absorción de Agua (g agua/g muestra)	
	Extracción	Hidrólisis
	Térmica	Química
30	1.9727±0.0153	2.0596±0.0231
60	1.8319±0.0163	1.9941±0.0181
90	1.5406±0.0184	1.9263±0.0133
120	1.2454±0.0205	1.8543±0.0257

La obtención de la capacidad agua del concentrado proteico de las hojas de kiwicha por ambos métodos se encuentra en rangos de 1.24 – 1.97 g de agua/g de muestra para el método de extracción térmica, mientras que por el método químico se encuentra entre 1.85 – 2.05 g de agua/g de muestra, donde se observa que los niveles de absorción de agua del concentrado proteico de este último, se encuentra por encima del otro método como se observa en la figura 20.

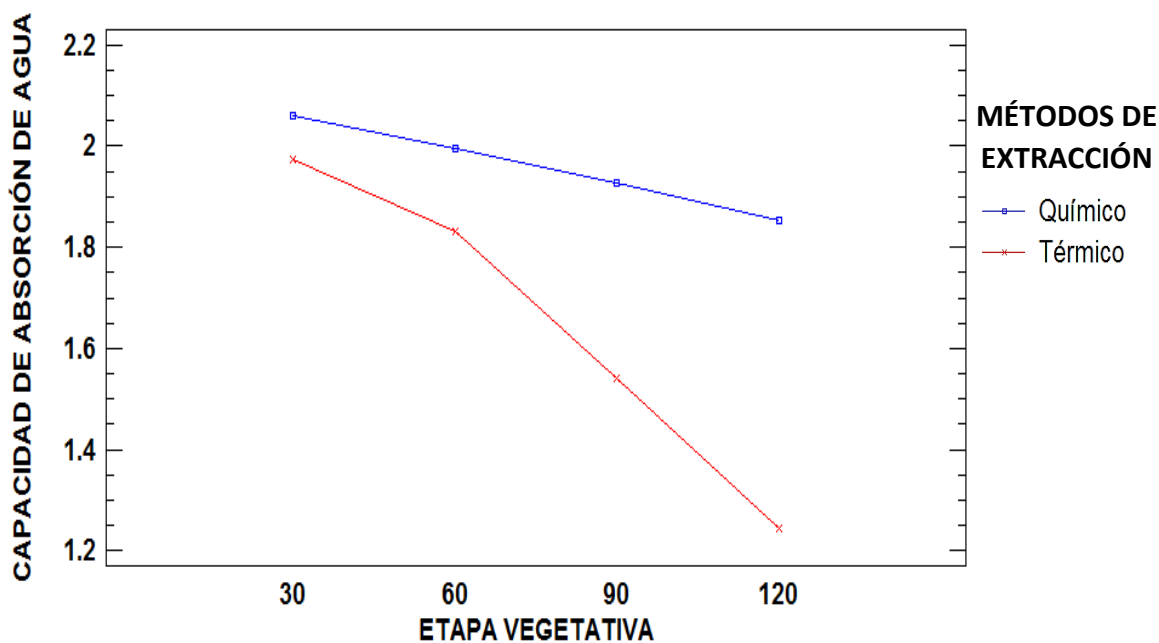


Figura 20: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en la capacidad de absorción de agua del cocentrado de proteínad de hojas de kiwicha

Asimismo se puede observar que para ambos métodos de extracción, la absorción de agua del concentrado proteico disminuye ligeramente a medida que la planta se va desarrollando. (UNAM, 2007) nos indican que la absorción total de agua aumenta con la concentración proteica, y este comportamiento se ve reflejado en los resultados obtenidos. Por otro lado, en la tabla 11 se muestra el análisis de varianza para la capacidad de absorción de agua.

Tabla 11: Análisis de Varianza para capacidad de absorción de agua - Suma de Cuadrados

Tipo III					
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G l</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ETAPAS VEGETATIVOS	0.758737	3	0.252912	683.18	0.0000
B:MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	0.580108	1	0.580108	1567.02	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.250053	3	0.0833509	225.15	0.0000
RESIDUOS	0.00592319	1	0.000370199		
		6			
TOTAL (CORREGIDO)	1.59482	2			
		3			

Según los resultados de la tabla 11; las etapas vegetativas, los métodos de extracción y la interacción de éstas son estadísticamente significativo debido que para estos efectos principales mencionados anteriormente, el valor de P es 0.0000 ($P < 0.05$).

Según (Gonçalves N. et al., 1997) en su investigación de caracterización de un aislado proteico de colza obtenido por hidrólisis química, reporta una absorción de agua de 2.53 g de agua/g muestra, el cual está por encima pero no lejos de los valores obtenidos, así también (Soledad B, Adames J. & Luzardo, 2015) reporta un valor de 2.83 g de agua/g de muestra para un concentrado proteico foliar de hojas de Grifo Negro (*Macrolobium Bicuspidatum*), mientras que con el concentrado proteico por el método químico de esta investigación, la máxima capacidad de absorción es de 2.05 g de agua/g muestra .

Los niveles de absorción de agua tanto para estos concentrados foliares como para el obtenido de las hojas de kiwicha, se encuentran en valores beneficiosos que permitirían una mejor textura de alimentos, además altos niveles de absorción de agua no tienen por qué ser siempre positivos, ya que un material con una alta absorción puede embeber una desproporcionada cantidad de agua y deshidratar otros componentes del sistema. Además los valores inferiores observados en la tabla 10 pueden ser debidos a la disminución en compuestos más higroscópicos, como los azúcares (Gonçalves N. et al., 1997).

(Tjhhadi et al., citado en Gonzales, 1999) menciona que la capacidad de absorción de agua de los aislados proteicos puede ser afectada por factores conformacionales en las moléculas de proteínas lo cual pueden exponer los aminoácidos internos en la estructura, haciendo que puedan interaccionar con el agua.

La diferencia de resultados entre ambos métodos puede explicarse en que las hojas de Kiwicha en el Método por extracción térmica al recibir un tratamiento térmico suave se rompen uniones de baja energía, como puentes de hidrogeno y se refuerzan las interacciones hidrofóbicas (Lupano, 2013). De igual manera (Sathe & Salunkhe citado en Gonzales M., 1999) nos indican que el agua absorbida por las proteínas está en función de varios parámetros entre los cuales características conformacionales de la molécula de proteína, factores estéricos, balance de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos, presencia de lípidos y carbohidratos.

La fijación de agua por las proteínas desciende generalmente a medida que se eleva la temperatura, debido a la disminución de los puentes de hidrógeno. El

calentamiento provoca la desnaturalización y la agregación, pudiendo esta última reducir el área superficial y el número de grupos aminos polares disponibles para fijar agua (UNAM, 2007).

4.5.2. CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE ACEITE

En la tabla 12 se muestra los resultados obtenidos para la capacidad de absorción de aceite en gramos de aceite por cada gramo de muestra del concentrado proteico de hojas de kiwicha durante las 4 etapas vegetativas y por los dos métodos de extracción.

Tabla 12: Capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico de ambos métodos para cada etapa vegetativa

Etapa Vegetativa (Días)	Capacidad de Absorción de Aceite (g aceite/g muestra)	
	Extracción	Hidrólisis
	Térmica	Química
30	0.9081 ± 0.0396	1.1316 ± 0.0112
60	0.9139 ± 0.0221	1.1395 ± 0.0252
90	0.9171 ± 0.0422	1.1483 ± 0.0202
120	0.9305 ± 0.0246	1.1648 ± 0.0307

En la tabla 12, se observa que la capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico, medido para cada etapa vegetativa tiende aumentar ligeramente; sin embargo, se considera que las etapas vegetativas ($p \geq 0.05$) no son estadísticamente significativa para esta variable de respuesta, a diferencia de los métodos de extracción ($p \leq 0.05$) que si son estadísticamente significativo como se

muestra en la tabla 13 (análisis de varianza para la capacidad de absorción de aceite).

Tabla 13: Análisis de Varianza para capacidad de absorción de aceite - Suma de Cuadrados

Tipo III					
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A:ETAPAS VEGETATIVOS	0.0025313	3	0.000843767	1.03	0.4059
B:MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	0.313754	1	0.313754	382.87	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.000111801	3	0.000037267	0.05	0.9866
RESIDUOS	0.0131117	16	0.000819482		
TOTAL (CORREGIDO)	0.329508	23			

El método de hidrolisis química permitió obtener niveles de hasta 1.16 g de aceite/g de muestra, mientras que el otro método alcanza solo hasta 0.93 g de aceite / g de muestra como se observa en la figura 21.

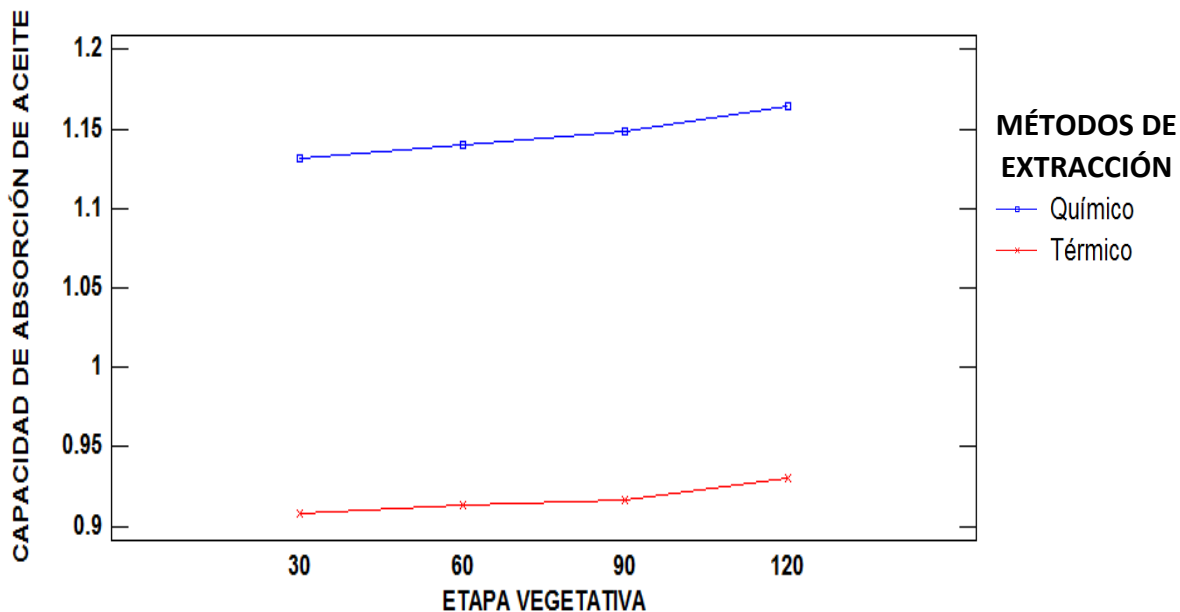


Figura 21: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en la capacidad de absorción de aceite del concentrado proteico de hojas de kiwicha

Esta diferencia entre ambos métodos se atribuye a que en el método de hidrolisis química se alcanza una máxima interacción de proteína – lípidos, del mismo modo (Cheftel et al., 1989 citado por Ávila, 2011) nos afirma que este comportamiento es debido a las interacciones hidrofóbicas en su punto isoeléctrico que juegan un papel importante en este fenómeno.

(Gonçalves N., 1997) en su investigación de obtención de un concentrado de colza reporto una capacidad de absorción de grasas de 1.28 g de aceite/g de muestra, así mismo (Ávila, 2011), en las mismas condiciones que el autor antes mencionado, reporto 1.42 g de aceite/g de agua para un aislado de soya, donde ambos autores presentan un valor cercano al obtenido en la presente investigación.

Así mismo se observa que la capacidad de absorción de grasa también es afectada por cambios conformacionales que pueden haber sufrido las moléculas de proteínas durante el proceso de concentrado, pero para este caso está en relacionado directamente con el número de sitios hidrofóbico de las cadenas de proteínas que estén disponibles para enlazarse con las moléculas de lípidos, es por ello las diferencias de capacidad de absorción de grasa entre ambos métodos.

4.5.3. CONTENIDO DE PROTEÍNAS DEL CONCENTRADO

En la tabla 14 presenta los resultados del porcentaje de proteínas del concentrado de hojas de kiwicha, obtenido por los dos métodos de extracción, en donde se observa que a medida que la planta se va desarrollando, va disminuyendo el contenido de proteínas del concentrado proteico y esto se debe a la baja disponibilidad de las proteínas, que son consumidas por el grano de la kiwicha.

Tabla 14: Porcentaje de proteínas del concentrado proteico obtenido por los dos métodos de extracción para cada etapa vegetativa

ETAPAS VEGETATIVOS	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	
	Extracción Térmica	Hidrólisis Química
30	53.2583±0.1388	50.1163±0.1574
60	49.6223±0.6266	41.7964±0.0850
90	35.4954±0.2511	30.5547±0.0963
120	29.1822±0.0799	17.4795±0.1304

Desde el punto de vista estadístico; como se observa en la tabla 15 (análisis de varianza para proteínas); las etapas vegetativas, los métodos de extracción y la interacción entre ellas son estadísticamente significativos debido a que el valor P es 0.0000 ($P \leq 0.05$).

Tabla 15: Análisis de Varianza para proteínas - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ETAPAS VEGETATIVOS	2910.62	3	970.208	16915.37	0.0000
B:MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	283.511	1	283.511	4942.96	0.0000
INTERACCIONES					
AB	62.5209	3	20.8403	363.35	0.0000
RESIDUOS	0.917706	1	0.0573566		
		6			
TOTAL (CORREGIDO)	3257.57	2			
		3			

La figura 22 muestra que el porcentaje de proteínas presente en el concentrado es inversamente proporcional conforme avanza las etapas vegetativas; además, el método por extracción térmica fue la que presentó los mayores valores de porcentaje de proteínas, encontrándose en un rango de 53.2583 ± 0.1388 – 29.1822 ± 0.0799 a comparación del otro método, cuyo rango de porcentaje de proteínas fue de 50.1163 ± 0.1574 – 17.4795 ± 0.1304 .

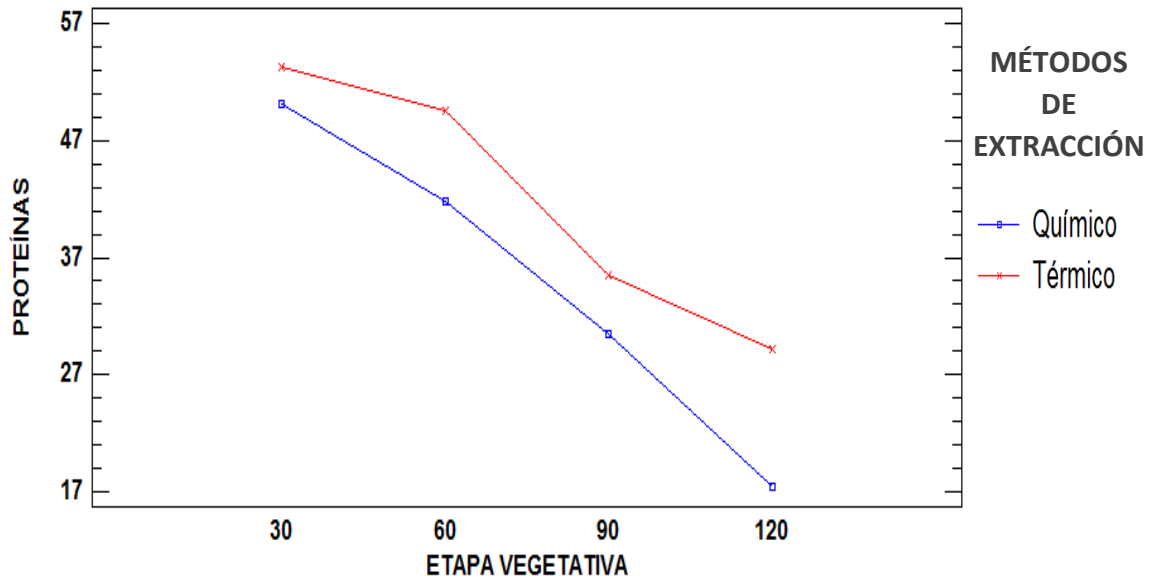


Figura 22: Gráfico de interacciones entre los métodos de extracción y las etapas vegetativas en el porcentaje de proteínas del concentrado proteico de hojas de kiwicha

(Urribarri, et al., 2004 citado por Mejía, 2009) confirma y respalda que entre los factores que pueden interferir en la extractabilidad y el rendimiento de la extracción se puede destacar la edad de la planta, una relación de proteína/fibra del vegetal, el equipo empleado para realizar el rompimiento celular, el tiempo y la temperatura de extracción.

Al realizar la comparación entre los métodos de extracción, el método por extracción térmica se antepone al otro método, por significativas diferencias positivas del porcentaje de proteínas, por lo que se estima que este método permite obtener un concentrado con mayor contenido de proteínas y esto probablemente se debe a que se sometió las hojas un mayor rompimiento y por ende una mejor predisposición de las proteínas, (PIRIE, 1987 citado por Mejía, 2009) respalda lo mencionado y nos dice que la extracción de las proteínas de hojas dependerá en gran parte, del grado de desintegración celular, que afecta la cantidad de proteína que se obtenga durante el proceso ya que cuanto mayor es el rompimiento, mayor es la destrucción de las paredes de la célula y, consecuentemente mayor cantidad de proteínas serán obtenidas en el jugo.

En una investigación realizada por (Mejía, 2009) para la obtención de un concentrado foliar a partir de la hojas de zanahoria utilizando el método de extracción térmico, obtuvo un contenido de proteínas de 43,8%, lo cual es similar a lo reportado, no obstante Cortes y Gallardo, en las mismas condiciones de extracción, obtuvieron 59.02% para un concentrado de proteínas a partir de alfalfa, mientras que en esta investigación se logra llegar en los dos primeros meses hasta un $49.6223 \% \pm 0.6266$, lo cual es un valor que se encuentra dentro de lo reportado por los autores y que esta diferencia ya se atribuye al tipo de material vegetal utilizado y a la edad del cultivo en que se realiza la extracción. Así como lo menciona este último autor, que el rendimiento y porcentaje de proteína en la obtención de los concentrados proteicos de materiales vegetales dependerá de su estado de maduración, región y condiciones de cultivo así como principalmente al tratamiento al que se somete para la obtención de dichos concentrados. Además (Mejía, 2009) nos señala que el procesamiento térmico

durante la preparación de los concentrados proteicos foliares puede contribuir para un aumento de la digestibilidad de las proteínas foliares acompañadas de una reducción de sustancias anti nutritivas, y que es recomendable alcanzar temperaturas entre 75° C y 80° C para la precipitación pues encima de estos valores pueden comprometer el valor nutritivo reduciendo principalmente las cantidades de aminoácidos esenciales, de la misma como menciona la autora se trabajó con respecto a las temperaturas, de tal forma evitar la reducción de nutrientes.

(Quintana J. y Alvarado A., 2013) en su investigación obtuvo un concentrado de Moringa Oleífera a partir de una muestra de una edad de 50 días desde su sembrío, un contenido de proteínas de 58.4 %, el cual si es comparado con los valores obtenidos en el periodo más cercano (60 días) se observa que hay una diferencia bastante marcada entre ambos resultados, pero esto se atribuye a que los autores combinan ambos métodos para mejorar y aumentar su extracción de proteínas, lo cual es una buena alternativa a tomar en cuenta, tal como Cortes y Gallardo también lo hizo en su investigación, y de esta manera potenciar el método.

(Cortes y Gallardo, 2005) en su investigación evaluaron diferentes métodos de extracción de proteínas a partir de la alfalfa y entre ellos se encuentra los métodos trabajados en esta investigación, donde se observó el mismo comportamiento, es decir el método térmico permite obtener mayores valores de proteína que el método por hidrolisis química. Una posible respuesta a esta diferencia se atribuye a que este método no permitió un mayor rompimiento a nivel celular y por ende hubo menor predisposición de proteínas, además (Mejía, 2009) nos manifiesta que se debe tomar en cuenta y cuidado que una alteración del pH puede significar alteraciones en el rendimiento y en la propia precipitación de las proteínas,

causando interferencias en la formación del coagulo. Así mismo (Cheftel y Cheftel, 2009) respalda lo mencionado anteriormente, recomendando un método físico en vez de químicos para el proceso de aislamiento de proteínas, pues de lo contrario la proteína puede desnaturalizarse.

Una de las visiones de esta investigación es ver la factibilidad de integrar este concentrado en la alimentación humana o sustituir la harina de pescado por un concentrado proteico a partir de hojas verdes para dietas balanceadas de animales, para ello (Ngugi et al., 2017) en su investigación evalúa la idoneidad de reemplazar la harina de pescado por un concentrado proteico de hojas de *Amaranthus* de la variedad *Hybridus* aplicado en la alimentación de la Tilapia, llegando a la conclusión que si bien no es posible eliminar por completo la harina de pescado, se puede reemplazar en un 80%, pero para lograr mejores niveles de crecimiento, este nivel de sustitución se reduce en un 60%.

4.5.4. PERFIL DE AMINOÁCIDOS DEL CONCENTRADO PROTEICO

En la tabla 16 se muestra el perfil de aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenida por extracción térmica y a los 60 días de su etapa vegetativa.

Tabla 16: Perfil de aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenido por el método de extracción térmica y a los 60 días de su etapa vegetativa

AMINOÁCIDO	CONTENIDO (mg/g muestra)	CONTENIDO (g/100 g proteína)
Ácido aspártico	0.45±0.01	0.09
Glutamina	0.14±0.02	0.03
Ácido glutámico	16.21±0.18	3.27
Asparagina	ND	ND
Serina	12.84±0.09	2.59
Treonina *	17.57±0.06	3.54
Arginina	28.96±0.10	5.84
Glicina	43.79±0.25	8.82
Alanina	26.57±0.09	5.35
Prolina	32.42±0.09	6.53
Valina *	18.24±0.27	3.68
Metionina *	5.40±0.38	1.09
Isoleucina *	13.94±0.01	2.81
Leucina *	38.9±0.15	7.84
Triptófano *	1.93±0.13	0.39
Fenilalanina *	27.65±0.28	5.57
Cisteína *	109.59±2.05	22.08
Histidina	3.25±0.09	0.65
Tirosina *	5.93±0.09	1.20
Lisina *	30.7±0.04	6.19

*Aminoácidos esenciales

En las figuras 23 y 24 se muestran los cromatogramas del estándar de aminoácidos y de los aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenida por extracción térmica a los 60 días de su etapa vegetativa respectivamente.

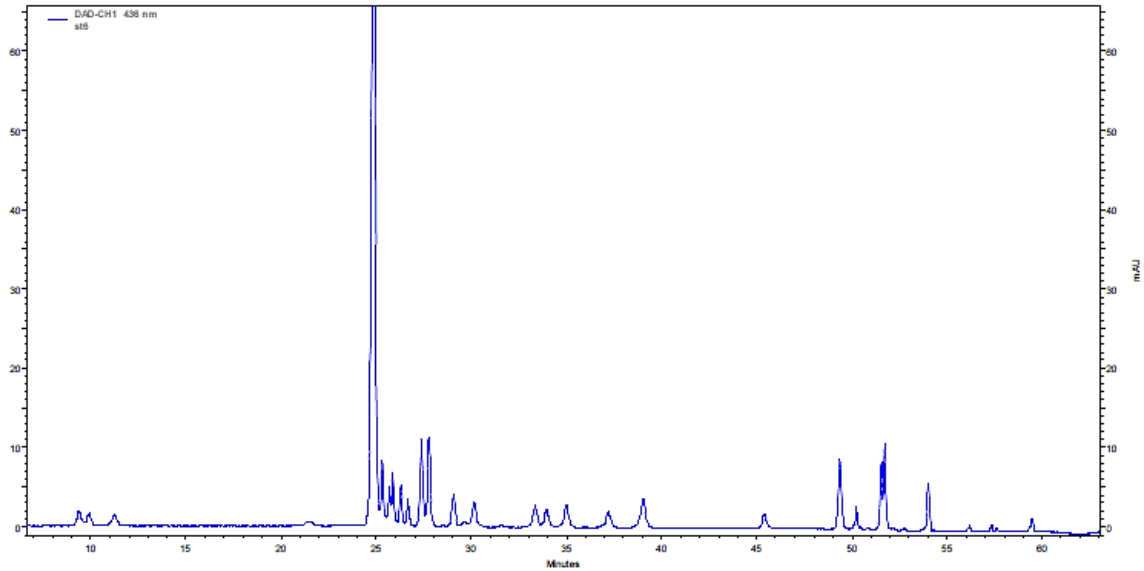


Figura 23: Cromatograma del estándar de aminoácidos

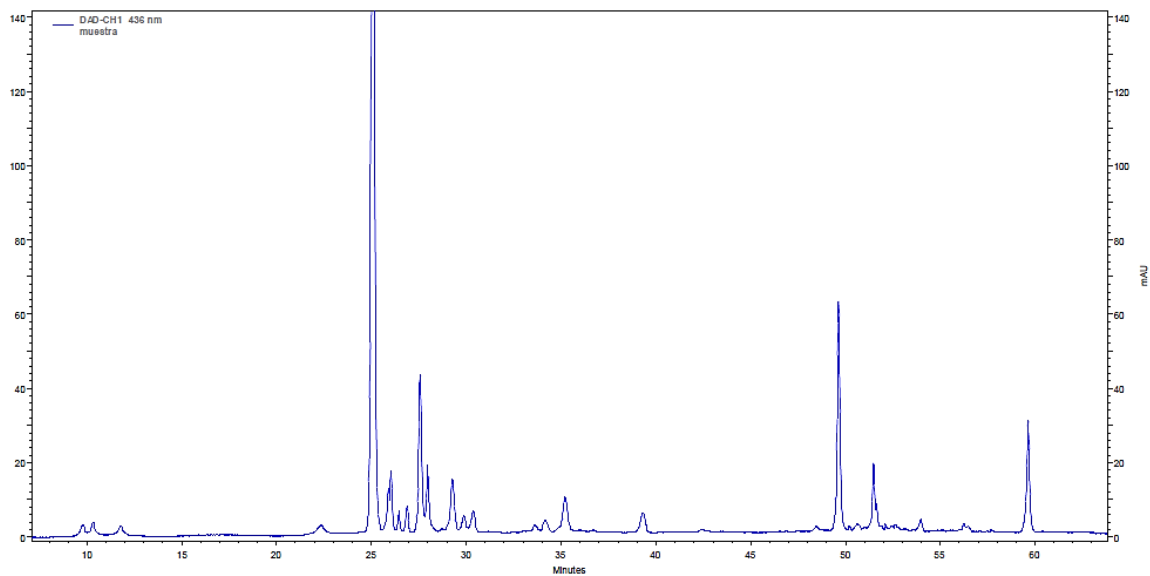


Figura 24: Cromatograma de aminoácidos del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenida por extracción térmica a los 60 días de su etapa vegetativa

A los 30 y 60 días de su etapa vegetativo se obtuvo un concentrado proteico por extracción térmica cuyo porcentaje de proteínas fueron de 53.2583 ± 0.1362 y 49.6223 ± 0.6266 respectivamente; sin embargo, se decidió realizar el perfil de aminoácidos del concentrado proteico a los 60 días de su etapa vegetativo porque, en primer lugar, la diferencia de % de proteínas de los concentrado de 30 y 60 es mínima (3.6360) y también porque (Nieto, 1990 citado en Poligrafiados Andinos II, 2012) nos menciona que en lo que se refiere a l rendimiento de materia verde en *Amarantus cruentus* y *Amarantus caudatus* se han encontrado alrededor de 30 t/ha de materia verde a los 30 días y alrededor de 60 t/ha a los 60 días, también con porcentajes de hojas superiores al 40%; además, (Cárdenas, 2012) menciona que entre las recomendaciones de consumo de hoja de amaranto, una de las más populares es el consumo de hoja cuando está tierna (hasta los dos meses de su etapa vegetativa), esto debido principalmente a atributos sensoriales, ya que mientras más madura es la hoja se vuelve más fibrosa, teniendo menos palatabilidad y digestibilidad. Por último si a los 60 días se llega obtener un buen perfil de aminoácidos con valores altos con respecto a los aminoácidos esenciales, definitivamente los habrá en el concentrado proteico de hojas de kiwicha a los 30 días por tener el mayor porcentaje de proteínas.

En tabla 17 se presenta el perfil de aminoácidos esenciales del concentrado proteico de hojas de kiwicha a los 60 días de su etapa vegetativa obtenido por el método de extracción térmica y los requerimientos de aminoácidos para niños pre – escolares de 2 a 5 años de edad según (FAO/OMS, 1985 citado en Marrugo et al., 2016).

Tabla 17: Perfil de aminoácidos esenciales del concentrado proteico de hojas de kiwicha obtenido por el método de extracción térmica y su comparación con los requerimientos de aminoácidos para niños pre – escolares de 2 a 5 años de edad según FAO/OMS

AMINOÁCIDOS ESENCIALES	CONCENTRADO PROTEICO DE HOJAS DE KIWICHA (g/100 g proteína)	PATRÓN FAO/OMS PARA ESCOLARES DE 2 A 5 AÑOS (g/100 g proteína)
Treonina	3.54	3.40
Valina	3.68	3.50
Metionina	1.09	2.50
Isoleucina	2.81	2.80
Leucina	7.84	6.60
Triptófano	0.39	1.10
Fenilalanina	5.57	6.30
Tirosina	1.20	1.45
Lisina	6.19	5.80

En la tabla 17 se observa que el concentrado proteico de hojas de kiwicha a los 60 días de su etapa vegetativo obtenido por el método de extracción térmica satisfacen las necesidades de aminoácidos en escolares de 2 a 5 años a excepción de lo aminoácido azufrado (metionina), el triptófano, la fenilalanina y la tirosina valores similares a los reportados por (Soriano y Córdoba; 1993 citado en Carranco, Castillo, Escamilla, Martínez, y Stephan; 2002) en donde presentan un

perfil de aminoácidos del concentrado proteico de hojas amaranto cuyo contenido no satisfacen en metionina, leucina y fenilalanina con un 2.2, 6.0, y 4.3 g/100 g proteína respectivamente; además, este mismo autor nos menciona que el alto contenido de lisina puede ser una fuente importante de suplemento para las dietas basadas en cereales, los que son comúnmente limitados en estos aminoácidos.

V. CONCLUSIONES

- El cultivo de kiwicha a los 30 días de su etapa vegetativa presentó una altura de 49.4000 ± 4.2901 cm; etapa donde aún no presentaba panoja; sin embargo, a los 60 días, su altura de la planta y panoja fue de $121.5400 \pm 8.2583\%$ y $15.2600 \pm 9.8793\%$ respectivamente. Por último a los 120 días, la kiwicha creció considerablemente con una altura de 157.8000 ± 14.2638 y 48.6300 ± 15.8463 cm de la planta y panoja respectivamente.
- Las hojas de kiwicha presentó altos valores de porcentajes de humedad en las primeras 2 etapa vegetativas; cuyos valores fueron de $85.2375 \pm 0.0678\%$ y $82.6851 \pm 0.1888\%$ en base húmeda respectivamente; sin embargo, este porcentaje fue disminuyendo hasta un $72.3757 \pm 0.1393\%$ en base húmeda lo que permitió que la materia seca en las hojas fuese aumentando. Por otro lado las proteínas presentes en las hojas fueron inversamente proporcional a las etapas vegetativas de la kiwicha iniciando con un porcentaje de $26.1565 \pm 0.1425\%$ y finalizando con $11.3599 \pm 0.0109\%$ en base seca.
- A los 30 días de su etapa vegetativos nos permitió obtener altos rendimiento de concentrado proteico debido a la disponibilidad de proteínas presente; sin embargo, mediante el método por extracción térmica se obtiene un máximo rendimiento de $5.1037 \pm 0.8547\%$; mientras que con el otro método, se logra obtener un $2.7952 \pm 0.6386\%$.
- El porcentaje de proteínas presente en los concentrados, estuvo influenciado por ambos métodos y por los días de las etapas vegetativas; donde los máximos valores se obtuvieron a los 30 días; sin embargo, el método por extracción térmica es el que permite un mayor porcentaje de proteínas de $53.2583 \pm 0.1388\%$ a comparación de la hidrólisis química, que solo obtuvo un valor de $50.1163 \pm 0.1574\%$.

- De las 4 etapas vegetativas, a los 30 días es donde se obtiene mayores valores de porcentaje de capacidad de absorción de agua; no obstante, el método de hidrólisis química es el que permite un máximo valor de 2.0596 ± 0.0231 g agua/g muestra, encontrándose en niveles que permiten ser utilizados en alimentos.
- La capacidad de absorción de aceite solo se vio influenciada por los métodos de extracción, siendo la hidrólisis química la que presentó un mayor valor de 1.1316 ± 0.0112 g aceite/g muestra, encontrándose en valores cercanos a los reportados por autores para otros concentrados.
- Los aminoácidos esenciales presente en el concentrado proteico obtenido a los 60 días mediante la extracción térmica satisfacen las necesidades de aminoácidos en escolares de 2 a 5 años a excepción de la metionina, triptófano, fenilalanina y la tirosina permitiendo ser una fuente importante de suplemento para las dietas basadas en cereales por el alto contenido de lisina.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar el perfil de aminoácidos del concentrado obtenido por hidrólisis química con la finalidad de poder hacer una comparación con el método de extracción térmica y a su vez determinar que aminoácidos se pierden por este método.
- Realizar un estudio del valor biológico, digestibilidad verdadera y NPU del concentrado proteico obtenido a partir de las hojas de kiwicha, con el fin de ver la posibilidad de hacer una sustitución parcial en la formulación de un alimento.
- Desgrasar la harina de hojas de kiwicha en el caso de la hidrólisis química con la finalidad de obtener un mayor porcentaje de proteínas; mientras que con el método de la extracción térmica, se recomienda desgrasar el concentrado proteico final.

VII. BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C (Association Official Analytical Chemistry). (1995). Official Methods of Analysis of Aoac International. Vol.I, 16th Edition. Cap. 37.

Adeyemi O. y Osubor C. (2016) Assessment of nutritional quality of water hyacinth leaf protein concentrate, In The Egyptian Journal of Aquatic Research, Volume 42, Issue 3, Pages 269-272.

Alfaro M; Martinez A; Ramirez R y Bressani R. (1985). Rendimiento y composición química de las partes vegetativas del amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*, L.) en diferentes etapas fisiológicas. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala.

Armando J., Rosas P, Ulloa B., Ramírez J. (2012). Producción de aislados proteicos a partir de subproductos industriales. Fuente nueva época. 4:11

Avila C. (2011). Determinación de las proteínas de las propiedades físico – químicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos. (Tesis de pregrado). Escuela politécnica nacional. Quito, Ecuador.

Baduí D. (2006). Química de los alimentos. 4ta Edición. Pearson Educación. México. 736p

Bressani Ricardo. (1993). El amaranto: Una planta que ofrece grandes posibilidades de utilización agroindustrial. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Alimentos, N°1. Volumen 18.

Callejón Raquel. (2009). Desarrollo de un método de HPLC para la determinación de aminoácidos en vinagre y su validación en muestras reales. Universidad de Sevilla.

- Cárdenas H.,AS. (2012). Composición química, características de calidad y actividad antioxidante de pasta enriquecida con harina de amaranto y hoja de amaranto deshidratada (Tesis de maestría).Universidad Autónoma de Queretaro, México.
- Carranco ME, Castillo RM, Escamilla A, Martínez F, Stephan E. (2002). Composición química, extracción de proteína foliar y perfil de aminoácidos de siete plantas acuáticas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Tomo 36, No. 3. México D.F.
- Cheftel & Cheftel (2009). Aminoácidos y proteínas. Cap 5. Recuperado de <http://www.bioquimica.dogsleep.net/Laboratorio/Plummer/Chp05a.pdf>
- Chel Guerrero L., Corzo L., David A. Betancur Ancona. (2003) Estructura y propiedades funcionales de proteínas de leguminosas. Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán, pag 38.
- Cortes Sánchez A., Gallardo Navarro Y. (2005). Obtención de Concentrados Proteicos a partir de alfalfa (*Medicago sativa*). Simposio llevado a cabo en IV Congreso Internacional XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, Morelia Michoacan, México.
- Elghandour M.M.Y., Vallejo L.H., Salem A.Z.M., Mellado M., Camacho L.M., Cipriano M., Olafadehan O.A., Olivares J., Rojas S. (2017). Moringa oleifera leaf meal as an environmental friendly protein source for ruminants: Biomethane and carbon dioxide production, and fermentation characteristics, In Journal of Cleaner Production, Volume 165, Pages 1229-1238.
- Flores, J., Caballero, C., Moreira, MA; (2008). Una interpretación aproximativa del concepto de Hidrólisis en estrucfloreturas peptídicas en un Curso de Bioquímica del IPC en el

- contexto de la Teoría de los Campos Conceptuales de Vergnaud. SCIELO vol.32 no.64 Caracas. Pág. 10.
- García Silva, DC (2015). Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de dos especies de plantas del género *Amaranthus* aplicado sobre cepas de interés clínico en el periodo diciembre de 2013 – mayo de 2014. (Tesina de pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Riobamba – Ecuador.
- García, G (2007). Potencial biotecnológico de las proteínas de la fracción vegetal del amaranto. *Revista Iberoamericana para la investigación y el Desarrollo Educativo*, pág. 1-2.
- García Valverde, MS. (2013). Diseño de un secador de bandejas para el secado de maíz, quinua y amaranto en la hacienda San Jorge. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Gonçalves, N., Vioque, J., Clemente, A., & Sánchez-V, R. (1997). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. *Grasas y Aceites*, 48, 282-289.
- Gonzales M., (1999). Caracterización fisicoquímica y valoración nutricional y funcional de un aislado proteico obtenido de la semilla de ébano. (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Nueva Leon. Moterrey, Mexico.
- Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). (2011). Kiwicha, alimento nuestro para el mundo. Cusco. Recuperado de <http://quinua.pe/wp-content/uploads/2014/09/pub-p168-pub.pdf>

- Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias Ecuador (INIA). (1989). El Cultivo de Amarantho, Una Alternativa Agronómica para Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2688/1/iniapscpm52.pdf>
- López JC; (2015). Efecto de la densidad de siembra sobre la producción de biomasa en Amarantho (*Amaranthus caudatus*). (Tesis de pregrado). Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Universidad Rafael Landívar. Escuintla – Guatemala.
- López L. (2013). Estructura de las proteínas. Estabilidad conformacional y adaptabilidad. Cátedra de Bromatología. UBA. Argentina. Recuperado de [http://www.qo.fcen.uba.ar/quimor/wpcontent/uploads/309%20clase%20proteinas%202013%20a\(1\).pdf](http://www.qo.fcen.uba.ar/quimor/wpcontent/uploads/309%20clase%20proteinas%202013%20a(1).pdf)
- Lupano C. (2013). Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. La Plata – Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Luque V. (2009). Estructura y propiedades de las proteínas. Universidad de Valencia. Recuperado de https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf
- Marrugo YA, Montero PM, Duran M; (2016). Evaluación Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de ingeniería de Alimentos. Cartagena, Bolívar – Colombia.
- Martínez C.A, Chávez M.C., Olvera M.A. y Abdo de la Parra M. (1996). Fuentes alternativas de proteínas vegetales como substitutos de la harina de pescado para la alimentación en acuicultura. Avances en Nutrición Acuícola III. Sinaloa, México, 279-324.

- Mendoza A; (2013). Rendimiento de Grano y Forraje en Variedades de Amaranto Bajo dos Densidades de Población en San Luis Potosí. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Mejía C. (2009). Elaboración de galletas enriquecidas con concentrado proteico foliar de zanahoria. (Tesis de maestría). Universidad Nacional José Faustino Sanchez Carrión. Huacho – Perú.
- Mora Mata, E. (2008). Evaluación de etapas fenológicas en el cultivo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) para su comercialización y producción. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista – México.
- Munive L., A.P. (2009). Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano a partir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz. Tesis Ing. Escuela politécnica Nacional. Quito.
- Ngugi C., Oyoo-Okoth E., Manyala J., Fitzsimmons K y Kimotho A. (2017). Characterization of the nutritional quality of amaranth leaf protein concentrates and suitability of fish meal replacement in Nile tilapia feeds. In *Aquaculture Reports*, Volume 5, 2017, Pages 62-69
- Oliva J. (2003). Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre *kluyveromyces marxianus*. (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid. Madrid.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Cultivo Tradicional del Mes, Amaranto. Recuperado de <http://www.fao.org/traditional-crops/amaranth/es/>

Ortega D. E. (Marzo de 2012). El amaranto – pequeñas semillas con fuerzas colosales.

Recuperado de http://www.el-pan-alegre.org/Guia_Amaranto.pdf

Pinciroli, M. (2010). Proteínas de arroz. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Poligrafiados Andinos II, Recopilación (2012). Recuperado de

<https://documents.tips/documents/poligrafiado-andinos-ii-recopilacion-2012-copia.html>

Quintana J. y Alvarado A. (2013). Condiciones para la precipitación de proteína foliar

a partir de la Moringa Oleífera Lam. Tesis de ingeniero Alimentario. Universidad nacional abierta y a distancia. Barranquilla, Colombia.

Ramamurthy K. (2006). Evaluación del amaranto (*A. hypochondriacus* L.) como hortaliza en

comparación con la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) v.c., viroflay, en pedro Escobedo, Queretaro. Mexico.

Ramírez GV; (2009). Adición de Concentrado Foliar de Alfalfa (*Medicago Sativa*) en

Alimentos de Bajo Contenido Proteico. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenavista, Saltillo, Coahuila – México.

Rivera R. R. (1995). Cultivos Andinos en el Perú. Investigaciones y perspectiva de su

desarrollo. Minerva.

Rodríguez R., Carrera C. y Rodriguez J. (2002). Efecto de la temperatura sobre películas de un

aislado proteico del suero bovino (WPI) absorbidas sobre la interface aceite – agua. Grasas y Aceites. Vol. 53. Fasc. 3, 340-351.

Serpa AM, Hincapié G y Álvarez C. (2014). Determinación del punto isoeléctrico de las

proteínas presente en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta* Crantz), variedades

- verónica y tai, jatropha (*Jatropha curcas* L.) y gmelina (*Gmelina arborea*). Grupo de Investigaciones Agroindustriales. Medellín – Colombia.
- Simbaña Camino, C.L. (2011). Estudio de las propiedades físicas y funcionales de un hidrolizado enzimático de proteínas de chocho a escala piloto y su aplicación como fertilizante. (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
- Soledad R., Adames M, Melissa L. (2015). Estudio Nutricional De Las Hojas De Grifo Negro (*Macrolobium Bicuspidatum*) en la digestibilidad de diferentes dietas para la alimentación de pollos de engorde (P. 40 - 49)
- Tamayo T. A., Gieteling J., Govargus A.H., M. Remko & Van der Goot A. (2016). Recovey of protein from green leaves: Overview of crucial steps for utilisation. *Food Chemistry*, 203, 402–408
- Tangka J. (2003). Analysis of the Thermal Energy Requirements for the Extraction of Leaf Protein Concentrate from some Green Plants. In *Biosystems Engineering*, Volume 86, Issue 4, Pages 473-479.
- UNAM. (2007-2008). Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos. México. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/fundamentosytecnicasdeanalisidealimentos_12286.pdf
- Urribarrí C., L., Ferrer O., A., & Colina, A. (2004). Extracción y precipitación de las proteínas solubles del pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* Schum cv. Mott). *Rev. Fac. Agron*, 264-275.

- Villa JW; (2012). Evaluación de Tres Niveles de Harina de Amaranto *Amaranthus caudatus* en la Elaboración de Manjar de Leche. Escuela de Ingeniería en Industria Pecuarias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Villacrés Poveda, C.E. (2001). Obtención de un hidrolizado enzimático de alta funcionalidad a partir del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). (Tesis de maestría). Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
- Villarroel CH; (2012). Elaboración y Control de Calidad de una Sopa Instantánea Nutritiva a base de Amaranto. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Wrigley C., Corke H., Seetharaman K., Faubion J., (2016). Encyclopedia of food grains. The world of food the grains. 2a ed. Elsevier.295-346.
- Zhang W., Ding L, Grimi N., Jaffrin M. y Tang B. (2017). Application of UF-RDM (Ultrafiltration Rotating Disk Membrane) module for separation and concentration of leaf protein from alfalfa juice: Optimization of operation conditions. Separation and Purification Technology, Volume 175, Pages 365–375.

ANEXOS

ANEXO 1: Terreno de cultivo de kiwicha



Figura 25: Preparación del terreno para el cultivo de kiwicha

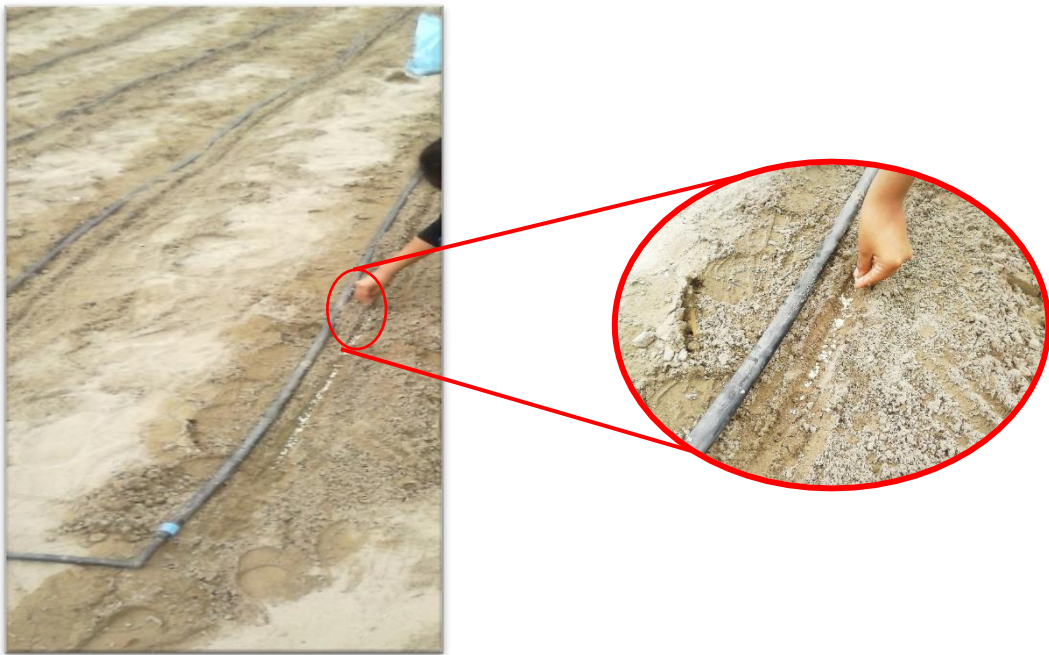


Figura 26: Siembre de semillas de kiwicha utilizando el método de chorro continuo

ANEXO 2: Etapas vegetativas de la kiwicha



Figura 27: Cultivo de kiwicha a los 30 días de su etapa vegetativa



Figura 28: Cultivo de kiwicha a los 60 días de su etapa vegetativa



Figura 29: Cultivo de kiwicha a los 90 días de su etapa vegetativa



Figura 30: Cultivo de kiwicha a los 120 días de su etapa vegetativa

ANEXO 3: Método de extracción por hidrólisis química



Figura 31: Secado de hojas de kiwicha



Figura 32: Molienda de hojas secas de kiwicha



Figura 33: Harina de hojas de kiwicha



Figura 34: Lavado de hojas de kiwicha con alcohol al 20%



Figura 35: Harina de kiwicha después de lavado con alcohol 20%

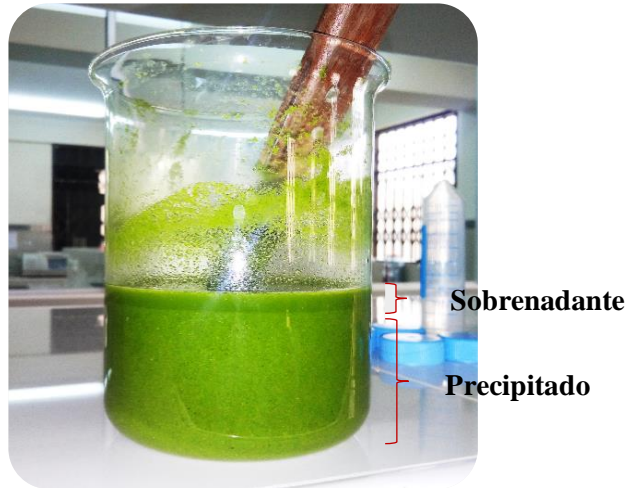


Figura 36: Extracto después de haberse llevado a pH 11

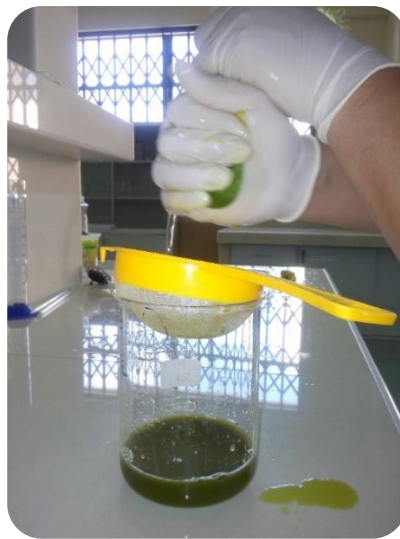


Figura 37: Filtración

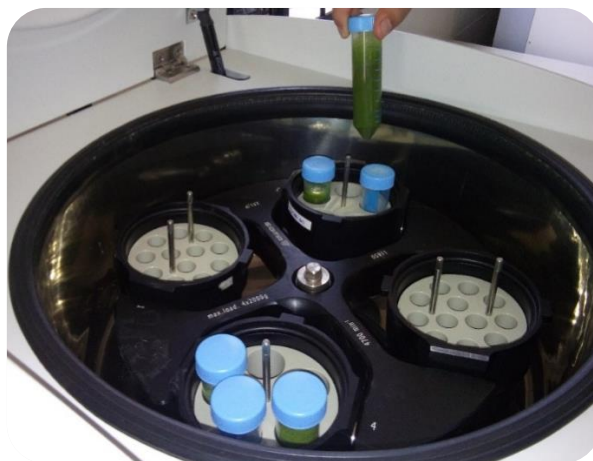


Figura 38: Centrifugación para retirar carbohidratos



Figura 39: Acidificación hasta un pH 4.



Figura 40: Precipitación de proteínas por el método de hidrólisis química.



Figura 41: Concentrado proteico secado y molido por el método de hidrólisis química.

ANEXO 4: Método de extracción térmica



Figura 42: Lavado y desinfección de hojas de kiwicha



Figura 43: Trituración de hojas con agua en relación 1:3



Figura 44: Extracción de jugo mediante filtración manual



Figura 45: Precipitación de proteínas por calor



Figura 46: Proteínas precipitadas



Figura 47: Concentrado proteico obtenido mediante extracción térmica

ANEXO 5: Constancia de Análisis de Perfil de aminoácidos



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante:	Ángela Ortíz Moreno, Universidad Nacional del Santa, Ancash
Muestra:	Concentrado Foliar
Análisis:	Perfil de aminoácidos por cromatografía HPLC
Fecha de entrega de Resultados:	20 setiembre 2017

RESULTADOS

En las páginas 2 a 3 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
página web: www.uipn-upch.pe
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

Página 1 de 3

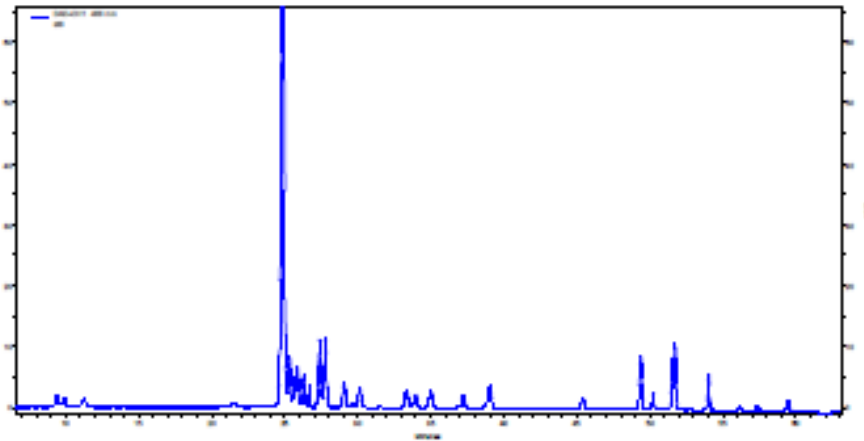
Av. Honorio Delgado 430, Lima 31 / Apartado Postal 4314
Central Telefónica: (511) 319-0000 2402 Secretaría Académica de
Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri

PERFIL DE AMINOÁCIDOS EN CONCENTRADO FOLIAR

AMINOÁCIDO	CONTENIDO (mg/g muestra)
Ácido aspártico	0.45 ± 0.01
Glutamina	0.14 ± 0.02
Ácido glutámico	16.21 ± 0.18
Asparagina	ND
Serina	12.84 ± 0.09
Treonina	17.57 ± 0.06
Arginina	28.96 ± 0.10
Glicina	43.79 ± 0.25
Alanina	26.57 ± 0.09
Prolina	32.42 ± 0.09
Valina	18.24 ± 0.27
Metionina	5.40 ± 0.38
Isoleucina	13.94 ± 0.01
Leucina	38.9 ± 0.15
Triptófano	1.93 ± 0.13
Fenilalanina	27.65 ± 0.28
Cisteína	109.59 ± 2.05
Histidina	3.25 ± 0.09
Tirosina	5.93 ± 0.09
Lisina	30.7 ± 0.04

CROMATOGRAMAS HPLC

Estándares de Aminoácidos



Aminoácidos en Concentrado foliar

