



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA DE INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE ALIMENTOS

Digestibilidad gastrointestinal *in vitro* y actividad antioxidante de la proteína aislada de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención de Título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autora: Adriana Maritza Paredes Pérez

Tutora: PhD. Mayra Liliana Paredes Escobar

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Mayra Liliana Paredes Escobar

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación del Trabajo de Titulación bajo la modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grado de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 21 de julio del 2023

PhD. Mayra Liliana Paredes Escobar

C.I. 0501873954

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Adriana Maritza Paredes Pérez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Adriana Maritza Paredes Pérez

C.I. 1850619188

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Adriana Maritza Paredes Pérez

C.I. 1850619188

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

PhD. Liliana Alexandra Cerda Mejía
C.I. 1804148086

PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria
C.I. 1802142461

Ambato, 18 de agosto del 2023

DEDICATORIA

A mi pequeña familia de tres.

*A mis padres, José y Cecilia que siempre
estuvieron presentes brindándome su apoyo emocional y económico,
por apoyarme en cada decisión y hacer todo lo posible por darme
las oportunidades que ellos no pudieron tener.*

*A mi hermana Samy, quien siempre ha estado a mi lado
brindándome su cariño y apoyo,
deseo que te sientas orgullosa y
pueda servir de ejemplo para tus decisiones futuras.*

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermana que han estado siempre presentes con su apoyo y cariño, por creer siempre en mí.

A la Dra. Mayra Paredes, por su paciencia, tiempo y ayuda durante el desarrollo de mi tesis.

A la Universidad Técnica de Ambato, especialmente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

A todas las personas que han estado a mi lado aportando de alguna forma a mi crecimiento personal y académico, incluyendo a mis amigos y compañeros de carrera. Un agradecimiento especial a Karla, mi amiga de toda la carrera, a quien conocí el primer día de nivelación y me acompañó hasta el último día, con ella vivimos alegrías, tristezas y frustraciones, pero se logró. Además, quiero agradecer a Adri, mi mejor amiga, por ser uno de los pilares fundamentales de la carrera, pero sobre todo de la vida. Finalmente, a mi amiga Jeka, gracias por ser una excelente amiga y persona.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
INDICE DE FIGURAS.....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN EJECUTIVO	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I - MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Harinas precocidas	1
1.1.2. Quinua.....	1
1.1.2.1. Clasificación Taxonómica de la quinua.....	2
1.1.2.2. Producción de quinua en Ecuador	2
1.1.2.3. Composición química y nutricional de la quinua	2
1.1.3. Amaranto.....	3
1.1.3.1. Clasificación Taxonómica del amaranto.....	3
1.1.3.2. Producción de amaranto en Ecuador	4
1.1.3.3. Composición química y nutricional del amaranto	4
1.1.4. Proteínas.....	5
1.1.4.1. Proteínas en la quinua.....	6
1.1.4.2. Proteínas en el amaranto	6
1.1.5. Concentrados proteicos	6

1.1.6.	Evaluación del contenido de proteína	7
1.1.6.1.	Método Dumas.....	7
1.1.7.	Digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	9
1.1.8.	Actividad antioxidante	10
1.1.9.	Electroforesis.....	11
1.2.	Objetivos.....	12
1.2.1.	Objetivo General	12
1.2.2.	Objetivos Específicos.....	12
1.3.	Hipótesis	13
1.3.1.	Rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos mediante precipitación isoelectrica a valores de pH de 4,0 y 5,0.....	13
1.3.2.	Actividad antioxidante del concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>) y amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	14
CAPÍTULO II - METODOLOGÍA.....		15
2.1.	Materiales	15
2.1.1.	Materia prima.....	15
2.1.2.	Reactivos	15
2.1.3.	Equipos.....	16
2.1.4.	Material Fungible	17
2.2.	Métodos	17
2.2.1.	Obtención de harinas de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>) y amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	17
2.2.2.	Obtención de las harinas precocidas	18
2.2.3.	Desengrasado de las harinas.....	18
2.2.4.	Obtención de concentrados proteicos de tres mezclas de harinas precocidas de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>) y amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>) mediante precipitación isoelectrica a valores de pH de 4 y 5	19

2.2.5.	Cuantificación de la concentración proteica por el método Dumas.....	20
2.2.6.	Simulación de la digestibilidad gastrointestinal <i>in vitro</i> en fase gástrica y fase duodenal de los concentrados proteicos	20
2.2.6.1.	Fase gástrica.....	20
2.2.6.2.	Fase duodenal	21
2.2.7.	Determinación de la capacidad antioxidante por el método TBARS ..	21
2.2.8.	Electroforesis SDS-PAGE	22
2.2.9.	Diseño experimental.....	24
CAPÍTULO III - RESULTADOS Y DISCUSIÓN		26
3.1.	Análisis y discusión de los resultados	26
3.1.1.	Mezclas de harinas crudas y precocidas.....	26
3.1.2.	Contenido de grasa y humedad	27
3.1.3.	Obtención de concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto y análisis del rendimiento.....	29
3.1.4.	Cuantificación de proteína presente en concentrados proteicos extraídos de mezclas de harinas precocidas	35
3.1.5.	Digestibilidad gastrointestinal <i>in vitro</i>	37
3.1.6.	Actividad antioxidante de la proteína de harinas precocidas	46
3.2.	Verificación de hipótesis	50
3.2.1.	Rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos mediante precipitación isoelectrica a valores de pH de 4,0 y 5,0.....	50
3.2.2.	Actividad antioxidante del concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (<i>Chenopodium quinoa Willd</i>) y amaranto (<i>Amaranthus caudatus</i>).....	50
CAPÍTULO IV - CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		51
4.1.	Conclusiones.....	51
4.2.	Recomendaciones	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		54

ANEXOS 66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación taxonómica de la quinua	2
Tabla 2	Composición química de la quinua, valores máximos y mínimos.....	3
Tabla 3	Clasificación taxonómica del amaranto	4
Tabla 4	Composición química del amaranto.....	5
Tabla 5	Factores de conversión de proteína usados para convertir nitrógeno a proteína, entre diferentes ingredientes alimenticios.....	8
Tabla 6.	Preparación de soluciones madre de fluidos de digestión simulados	20
Tabla 7	Preparación de las soluciones buffer.....	23
Tabla 8	Formulación para la preparación del gel separador o gel inferior a una concentración de 12%	23
Tabla 9	Formulación para la preparación del gel compactador o gel superior a una concentración de 4%	24
Tabla 10.	Mezcla de harinas crudas de quinua y amaranto.....	26
Tabla 11	Mezcla de harinas precocidas de quinua y amaranto.....	26
Tabla 12	Contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto.....	28
Tabla 13	Contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas crudas (Control) de quinua y amaranto.....	28
Tabla 14	Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas a diferentes valores de proporciones y pHs de precipitación.....	32
Tabla 15	Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Rendimiento por Factor A.	34
Tabla 16	Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Rendimiento por Factor B	34
Tabla 17	Porcentaje de proteína de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones mediante el método Dumas	36
Tabla 18	Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas	

precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado.....	40
Tabla 19 Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE sin 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado.....	43
Tabla 20 Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado	45
Tabla 21 Porcentaje de actividad antioxidante de concentrado proteico extraído de harina precocida, harina cruda y empleado BHT como control a diferentes concentraciones y evaluada por el método TBARS.....	47
Tabla 22 Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Actividad Antioxidante por Factor A.....	49
Tabla 23 Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Actividad Antioxidante por Factor B.....	49
Tabla 24 Porcentaje de humedad en mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto.....	69
Tabla 25 Porcentaje de humedad en mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto	69
Tabla 26 Datos obtenidos para el cálculo del contenido de grasa de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto	70
Tabla 27 Porcentaje de grasa en mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto	70
Tabla 28 Datos obtenidos para el cálculo del contenido de grasa de mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto.....	71
Tabla 29 Porcentaje de grasa en mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto..	71
Tabla 30 Datos obtenidos para la precipitación isoelectrica de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto	72
Tabla 31 Datos obtenidos para la precipitación isoelectrica de mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto.....	72

Tabla 32 Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto.....	73
Tabla 33 Porcentaje de rendimiento promedio de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto	74
Tabla 34 Resumen estadístico del porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto por cada 5 g de muestra	74
Tabla 35 Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas a diferentes valores de proporciones y pHs de precipitación.....	75
Tabla 36 ANOVA para el Porcentaje de Rendimiento Proteico de harinas precocidas.	75
Tabla 37 Peso de muestras de concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones.....	76
Tabla 38 Resultados obtenidos del porcentaje de proteína de concentrados proteicos extraídos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones.....	78
Tabla 39 Datos de absorbancia a 532 nm de aceite de oliva oxidado y aceite de oliva no oxidado.....	79
Tabla 40 Valores de absorbancia a 532 nm de harinas precocidas a diferentes concentraciones.....	80
Tabla 41 Porcentaje de actividad antioxidante de harinas precocidas a diferentes concentraciones.....	80
Tabla 42 Valores de absorbancia a 532 nm de harina cruda a diferentes concentraciones.....	80
Tabla 43 Porcentaje de actividad antioxidante de harina cruda a diferentes concentraciones.....	81
Tabla 44 Valores de absorbancia a 532 nm del antioxidante sintético BHT a diferentes concentraciones.....	81
Tabla 45 Porcentaje de actividad antioxidante del antioxidante sintético BHT a diferentes concentraciones	82
Tabla 46 ANOVA para el Porcentaje de Actividad Antioxidante de harinas precocidas.....	82

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de interacciones para el porcentaje de rendimiento proteico entre el Factor A: mezcla de harinas precocidas relación quinua: amaranto (a0= 25:75, a1= 50:50, a2= 75:25) y Factor B: pHs de precipitación (b0= 4,0 y b1= 5,0). Fuente: Statgraphics, 2023	35
Figura 2. Electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).	39
Figura 3. Electroforesis SDS-PAGE sin 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).	42
Figura 4. Electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).	44
Figura 5. Actividad antioxidante del concentrado proteico de harina precocida frente a concentrado proteico de harina cruda (Control 1) y antioxidante sintético BHT (Control 2).	48

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Fotografías del proceso experimental del estudio realizado	66
ANEXO B. Resultados obtenidos sobre el contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto.....	69
ANEXO C. Datos obtenidos y rendimientos proteicos de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto	72
ANEXO D. Datos obtenidos para la cuantificación proteica de mezclas de harinas precocidas.....	76
ANEXO E. Digestibilidad gastrointestinal in vitro.....	79
ANEXO F. Datos obtenidos de la Actividad Antioxidante.....	79

RESUMEN EJECUTIVO

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y el amaranto (*Amaranthus caudatus*) son pseudocereales ricos en proteínas y contienen todos los aminoácidos esenciales, considerados proteínas completas. En Ecuador, el consumo de harinas precocidas se ha incrementado ya que ofrecen una opción rápida y fácil de preparar diversos platos.

Los procesos de transformación de alimentos pueden afectar las características nutricionales iniciales de la materia prima. En la presente investigación, se emplearon tres mezclas de harinas precocidas desengrasadas y mezclas de harinas crudas desengrasadas, como controles. Las mezclas se realizaron en relación quinua: amaranto en proporciones 25:75, 50:50 y 75:25. La proteína aislada se obtuvo por precipitación isoelectrica a pH 8,0 de solubilización y pHs 4,0 y 5,0 para precipitación de proteínas. La digestibilidad simulada se realizó en fase gástrica y duodenal, para la caracterización proteica y avance de hidrólisis se empleó electroforesis SDS-PAGE. Por otro lado, la presencia de actividad antioxidante fue evaluada por el método TBARS.

Finalmente, se trabajó con la mezcla de 25 por ciento harina de quinua y 75 por ciento harina de amaranto y pH 4,0, debido a su mayor rendimiento y cuantificación proteica. En los concentrados proteicos se observó la presencia de globulinas 7S y 11S y albúminas 2S. Tras la digestibilidad gastrointestinal *in vitro*, se observó una mayor digestibilidad duodenal de la proteína de harinas precocidas frente a harinas crudas. Además, el análisis de actividad antioxidante, permitió establecer una mayor actividad en las harinas precocidas en comparación a las harinas crudas.

Palabras claves: Harinas precocidas, Concentrados Proteicos, Digestibilidad gastrointestinal *in vitro*, electroforesis, actividad antioxidante.

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) and amaranth (*Amaranthus caudatus*) are pseudocereals rich in protein and contain all the essential amino acids, considered complete proteins. In Ecuador, the consumption of precooked flours has increased because they offer a quick and easy option for preparing various dishes.

Food transformation processes can affect the initial nutritional characteristics of the raw material. In the present investigation, three mixtures of defatted precooked flours and mixtures of defatted raw flours were used as controls. The mixtures were made with a quinoa: amaranth ratio of 25:75, 50:50 and 75:25. The isolated protein was obtained by isoelectric precipitation at pH 8.0 for solubilization and pHs 4.0 and 5.0 for protein precipitation. Simulated digestibility was performed in gastric and duodenal phase, and SDS-PAGE electrophoresis was used for protein characterization and hydrolysis progress. On the other hand, the presence of antioxidant activity was evaluated by the TBARS method.

Finally, we worked with the mixture of 25 percent quinoa flour and 75 percent amaranth flour and pH 4.0, due to its higher yield and protein quantification. In the protein concentrates, the presence of 7S and 11S globulins and 2S albumins was observed. After in vitro gastrointestinal digestibility, a higher duodenal digestibility of protein from precooked versus raw flours was observed. In addition, the analysis of antioxidant activity established a higher activity in precooked flours compared to raw flours.

Keywords: Precooked flours, protein concentrates, in vitro gastrointestinal digestibility, electrophoresis, antioxidant activity.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Harinas precocidas

Las harinas precocidas son harinas que han sido sometidas a procesos de cocción y molienda. Las altas temperaturas provocan la gelatinización del almidón, logrando una textura suave, por lo que su empleo en alimentos va destinado a la elaboración de tortillas, tamales, arepas y otros platos típicos. Además, se caracterizan por ser harinas de fácil digestión, mayor capacidad de absorción de líquidos y poseer una vida útil más larga en comparación a las harinas convencionales, debido a que el proceso de cocción elimina el contenido de humedad y reduce la actividad enzimática de la harina (**Bianco D et al., 2014.; Chávez Pérez, 2020**).

1.1.2. Quinua

Según **IICA (2015)**, la quinua es un grano alimenticio con diámetros de entre 1,8 y 2,2 mm, se destaca por su alto contenido de proteínas y compuestos bioactivos, superando en valor biológico a los cereales. La planta de quinua pertenece a la familia de la *Chenopodiaceae*, su tamaño depende del genotipo y condiciones ambientales, por lo que su altura va desde 0,5 a 3,0 m.

La quinua tuvo su origen en los Andes peruanos y regiones andinas comprendidas en América del Sur, desde la conquista española el consumo de quinua tuvo un rechazo debido a que fue considerada como “comida india” y de clases bajas (**Bazile & Santivañez, 2014**, como se citó en **Basantes et al., 2022**). En la actualidad, su cultivo se extiende hasta Europa y América del Norte, siendo la INIAP Tunkahuán la variedad con mayor demanda (**Cadena, 2021**).

1.1.2.1. Clasificación Taxonómica de la quinua

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la quinua

Clasificación	Descripción
Nombre Científico	<i>Chenopodium quinoa Willd</i>
Reino	Plantae
Clase	Eudicots
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Género	<i>Chenopodium</i>
Especie	<i>C. quinoa</i>

Fuente: Adaptado de **Janssen et al., 2016**

1.1.2.2. Producción de quinua en Ecuador

Ecuador es uno de los principales proveedores de quinua en el mercado internacional, en cuanto a producción se posiciona en tercer lugar después de Perú y Bolivia (**FAO, 2014**). La superficie anual de cultivo es de 2 mil hectáreas y cosechas de 0,70 toneladas por cada hectárea, las provincias de Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Carchi, Tungurahua y Loja, son las de mayor producción (**Silva Astudillo, 2021**).

1.1.2.3. Composición química y nutricional de la quinua

La quinua se ha catalogado como un alimento completo, cubre los requerimientos diarios de nutrición humana y al contener fitosteroles, polifenoles y flavonoides tienden a generar propiedades antioxidantes y antiinflamatorias sobre el ser humano (**Vargas Zambrano et al., 2019**). El grano posee una alta calidad nutricional, debido a su contenido proteínico rico en aminoácidos, también posee vitaminas, minerales, hierro, calcio, niveles altos de potasio y fósforo y contenidos altos de grasa responsables de una lenta digestión. Además, contiene fibra dietaria soluble e insoluble, la fibra soluble ayuda en el proceso de digestión debido a su capacidad de absorber agua y la fibra insoluble está conformada por hemicelulosa, celulosa y lignina (**Pacheco Alfaro, 2016**).

En la Tabla 2, se evidencia la composición química de granos de quinua, la variación se debe a factores como variedad de planta, composición del suelo, madurez biológica y localización del cultivo.

Tabla 2

Composición química de la quinua, valores máximos y mínimos

Componente	g/100 g
Proteína	11 - 21
Grasa	5,3 – 8,4
Carbohidratos	53,5 – 74,3
Fibra	2,1 – 4,9
Ceniza	3,0 – 3,6
Humedad	9,4 – 13,6

Fuente: Adaptado de **Pacheco Alfaro, 2016**

1.1.3. Amaranto

El amaranto es considerado como un pseudocereal ya que produce semillas de tipo granos, el grano posee un diámetro aproximado de 0,9 a 1,7 mm y una apariencia lisa, brillante y coloraciones doradas, amarillo crema o negras (**Roa-Acosta et al., 2017**). Pertenece a la familia Amaranthaceae y al género *Amaranthus*, la planta crece con facilidad en la regiones andinas y costeras, debido a que posee resistencias a cambios bruscos de temperaturas (**Luis et al., 2018**). El amaranto se encuentra entre los alimentos olvidados, tuvo su auge durante la época precolombina, pero con el paso de los siglos y el cambio de hábitos alimenticios fue olvidado (**Basantes et al., 2022**).

1.1.3.1. Clasificación Taxonómica del amaranto

Luis et al. (2018) señalan al amaranto como un pseudocereal perteneciente a la familia Amaranthaceae, género *Amaranthus* y con alrededor de 70 especies, de las cuales 40 se encuentran distribuidas en el continente americano.

Tabla 3*Clasificación taxonómica del amaranto*

Clasificación	Descripción
Nombre Científico	<i>Amaranthus caudatus L.</i>
Reino	Plantae
Clase	Eudicots
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Género	<i>Amaranthus</i>
Especie	<i>caudatus</i>

Fuente: Adaptado de **Jiménez Sanchez, 2017**

1.1.3.2. Producción de amaranto en Ecuador

A nivel mundial, China y México son considerados como los mayores productores de amaranto. En Ecuador, el cultivo comprende las provincias de la serranía en altitudes de 2800 msnm, pluviosidad baja y a temperaturas de 18 a 24 °C (**Jurado Escobar, 2019**). En el país se cultivan dos especies de amaranto el *Amaranthus quitensis* (Sangorache) y el *Amaranthus caudatus* L. (Amaranto), con granos de color negro y blanco, respectivamente (**Basantes et al., 2022**). Sin embargo, la producción de amaranto en Ecuador es baja, comprende 15 hectáreas cultivables de las 80.000 registradas por el INIAP y como consecuencia una baja comercialización en el mercado internacional (**Jurado Escobar, 2019**).

Fierro Altamirano et al. (2021) señalan que para el 2020, la participación de Ecuador en el comercio mundial de amaranto fue de 0,25%.

1.1.3.3. Composición química y nutricional del amaranto

El amaranto se destaca por su contenido de proteína cruda, fibra, grasa y cenizas, siendo contenidos relativamente altos en relación a los cereales, también posee un

balance de aminoácidos azufrados (2,6 a 5,5%) y lisina (3,2 a 6,4%) cercanos al óptimo y requerido por la FAO (Silva Sánchez, 2007.; Luis et al., 2018).

Trino et al. (2017) mencionan que el amaranto posee un gran valor nutritivo y medicinal, contienen carbohidratos, vitaminas, minerales y ácidos grasos como el oleico, linoleico y α -linolénico, que contribuyen a disminuir considerablemente los niveles de LDL-Colesterol o colesterol malo y el estrés oxidativo. Los contenidos de fibra y carbohidratos promueven a una rápida digestión y reducción de colesterol.

Tabla 4

Composición química del amaranto

Componente	g/100 g
Proteína cruda	17,9
Grasa	7,7
Carbohidratos	57,0
Fibra	2,2
Ceniza	4,1
Humedad	11,1

Fuente: Adaptado de **Silva Sánchez, 2007**

1.1.4. Proteínas

Moscoso Gama et al. (2020) definen a las proteínas como biomoléculas formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Las unidades más simples que componen a todas las proteínas son los aminoácidos, cadenas pequeñas de aminoácidos forman péptidos; agrupaciones de hasta 10 aminoácidos se denominan oligopéptidos; cadenas superiores a 10 forman polipéptidos y la agrupación superior a 50 aminoácidos con altos pesos moleculares forman la proteína.

Badui Dergal (2006) menciona que las proteínas en conjunto con los ácidos nucleicos forman las moléculas de información de todo ser vivo. Las proteínas en el ser vivo realizan funciones de estructura, transporte, defensa, reconocimiento, función catalítica, etc. Sin embargo, como componentes de alimentos se caracterizan por su

fácil digestibilidad, aportar con propiedades nutricionales, debido a sus propiedades funcionales sirven como ingredientes en la elaboración de alimentos, no son tóxicas y se encuentran disponibles en abundancia.

1.1.4.1. Proteínas en la quinua

Abugoch James (2009) señala que el contenido de proteína promedio de la quinua es de 16,3%, sin embargo, los valores pueden ir desde 12 – 23%, según la variedad de quinua. Por otro lado, **IICA (2015)** menciona que las proteínas de la quinua reúnen todos los aminoácidos esenciales. Además, de que su contenido de proteína es relativamente alto, debido a que, en comparación con otros cereales, el embrión abarca una gran proporción de la semilla, siendo su contenido similar al que ofrecen la avena y el trigo y superior al del maíz, arroz y cebada. Las globulinas y albúminas son las principales proteínas presentes en la quinua.

1.1.4.2. Proteínas en el amaranto

El contenido de proteína reportado en literatura varía entre 12 a 19%, siendo superior al arroz, maíz y trigo, también contiene metionina, lisina y cisteína, aminoácidos en alto contenido y limitantes en la mayoría de alimentos de origen vegetal (**Basantes et al., 2022**). Las globulinas o amarantinas son los principales componentes en la proteína de amaranto (**Ayala Niño et al., 2019**).

1.1.5. Concentrados proteicos

Badui Dergal (2006) define a los concentrados como productos más refinados y con un contenido de proteínas mínimo de 50%. Durante su manufactura aproximadamente la mitad de los hidratos de carbono son eliminados, al igual de otros componentes anti nutritivos o no proteicos como azúcares, fibra, lípidos y otros de carácter no deseable.

Para la obtención de concentrados proteicos, **Abugoch et al. (2008)** mencionan considerar dos parámetros. Primero la solubilidad alcalina de la proteína, esta se logra en medios básicos y comprende pHs de entre 8,0 – 11,0 y segundo la precipitación

isoelectrica en medios ácidos (pHs 4,0 – 6,0). **Martínez et al. (2019)** señalan que la precipitación isoelectrica da lugar al fraccionamiento de proteínas en húmedo, siendo el método más empleado, debido a su fácil manejo, bajo costo, altos rendimientos y efectos positivos en cuanto a la digestibilidad.

1.1.6. Evaluación del contenido de proteína

1.1.6.1. Método Dumas

El método de combustión Dumas permite determinar el contenido total de nitrógeno de una matriz orgánica, mediante la pirólisis completa de la muestra y posterior medición de nitrógeno de los gases de combustión (**Saint & Goupy, 2004**). El método consiste en calcinar muestras a elevadas temperaturas y en atmósferas de oxígeno puro, luego, mediante tubos de oxidación y reducción tiende a convertir el nitrógeno en N₂ en presencia de cobre los óxidos de nitrógeno se reducen catalíticamente a gas nitrógeno y el resto de los productos obtenidos de la combustión (CO₂ y H₂O) se adsorben en columnas. El gas nitrógeno puede ser medido por un detector de conductividad térmica, obteniendo resultados en mg o en porcentaje de nitrógeno, mediante factores de conversión se puede convertir el nitrógeno en proteínas (**FAO, 2019; Pérez Lite, 2021**).

El método Dumas es de fácil utilización, esta automatizado, no emplea productos químicos tóxicos y muestra los resultados en pocos minutos, en relación al Método Kjeldahl que emplea 8 horas para el proceso de digestión, además de minutos adicionales para destilación y valoración del método (**Pérez Lite, 2021**). Sin embargo, **Moron (1997)** menciona que el método no es aplicable a muestras húmedas, por lo que requiere de un secado previo y para reducir el error de muestreo se deben emplear cantidades pequeñas de muestra de entre 5-50 mg, la misma que deben estar homogénea y dividida finamente.

Tabla 5

Factores de conversión de proteína usados para convertir nitrógeno a proteína, entre diferentes ingredientes alimenticios

Ingredientes	Factores de conversión
CEREALES	
Harina, harina integral	5.83
Harina, extracción media o baja	5.70
Macarrones, espagueti, pasta de trigo	5.70
Salvado	6.31
Arroz	5.95
Centeno	5.83
Cebada	5.83
Avena	5.83
LEGUMINOSAS, NUECES Y SEMILLAS	
SEMILLAS	
Cacahuete	5.46
Soya, semillas, harina o productos	5.71
NUECES	
Almendra	5.18
Nuez de Brasil	5.46
Coco (sin corteza)	5.30
Otras nueces	5.30
SEMILLAS	
Ajonjolí, cártamo, girasol	5.30
LECHE	
Leche, todo tipo, fresca o seca	6.38
ACEITE Y GRASAS	
Margarina (vegetal o animal)	6.38
Mantequilla	
OTROS ALIMENTOS (Incluye todas las carnes y pescados)	6.25

Fuente: Adaptado de **Tacon, 1989**

1.1.7. Digestión gastrointestinal *in vitro*

Minekus et al. (2014) mencionan que la digestión gastrointestinal simulada busca imitar las condiciones fisiológicas *in vivo*, incluyendo la fase oral, gástrica y del intestino delgado, considerando factores como presencia y concentraciones de enzimas digestivas, pH, tiempo de digestión, concentraciones de sal, entre otros factores. **Almeida et al. (2015)** mencionan que la digestión *in vitro* emplea condiciones simuladas que permite medir el porcentaje de proteínas que son hidrolizadas durante los procesos digestivos, a través de enzimas proteolíticas, siendo un método más rápido y eficaz que estudios *en vivo*.

El intestino mediante procesos de digestión y absorción permite la integración de nutrientes al organismo, procesos que tienen lugar en el intestino delgado. Para una adecuada digestión y absorción de nutrientes, son necesarias secreciones biliares y el funcionamiento correcto del páncreas exocrino, cantidades insuficientes de proteasas pancreáticas dan lugar a una falla en la digestión y absorción de proteínas. Durante la digestión la comida se mezcla con enzimas amilasas, proteasas y lipasas, en el duodeno se mezcla con fosfolípidos y sales biliares. Las proteínas son liberadas durante todas las etapas de digestión, la digestión de las proteínas inicia en el estómago con la acción de la pepsina gástrica, la pepsina se activa a pH bajo (2,0 – 4,0) y su inactivación se da al pH neutro del intestino. Sin embargo, en el duodeno y yeyuno es donde ocurre la mayor digestión de proteínas, esto se da gracias a la acción de proteasas pancreáticas. Los aminoácidos libres y oligopéptidos son los productos resultantes tras la digestión de proteínas, tras ello los oligopéptidos en presencia de enzimas son degradados a aminoácidos libres, di y tripéptidos, para posteriormente ser transportados (**García Luna & López Gallardo, 2007**).

Estudios de digestibilidad en humanos comprende una alta complejidad, ya que implicaría tomar muestras del estómago y duodeno por métodos de aspiración en grandes poblaciones de individuos, siendo difícil acceder por completo al intestino (**Carrillo, 2014**). Los métodos *in vitro* ofrecen varias ventajas, entre ellas está la rapidez, costos bajos de empleo, menos laborioso, el análisis de numerosas réplicas al mismo tiempo, trabajar con diferentes matrices alimentarias, además de que no poseen

restricciones éticas y técnicas en comparación a estudios en humanos (**Minekus et al., 2014**).

1.1.8. Actividad antioxidante

Los antioxidantes son compuestos naturales o sintéticos cuya función es prevenir o retardar un daño oxidativo, causante de la formación de radicales libres (**Abril-Ibarra, 2021**).

Los radicales libres son moléculas que poseen en su orbital externo un electrón desapareado, el mismo que adopta capacidades elevadas de reacción con otros sistemas biológicos (**Paredes Salido & Roca Fernández, 2002**). La vida media estimada de un radical libre es de microsegundos, pero se caracteriza por reaccionar con todo lo que encuentre en su entorno, acumulándose en células y provocando estrés oxidativo en el ADN, proteínas celulares y lípidos, además de causar el envejecimiento y enfermedades como la hipertensión arterial, arterioesclerosis, enfermedades neurodegenerativas, diabetes, cáncer, etc. (**Hernández Espinosa et al., 2019**).

La industria de antioxidantes naturales se encuentra en un constante crecimiento, busca reemplazar a los antioxidantes sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA) que preocupan a la sociedad sobre los efectos nocivos que estos puedan provocar sobre la salud humana. La oxidación lipídica es una de las razones de deterioro en alimentos, acorta la vida útil de varios alimentos, causando daños biológicos, enzimáticos y formación de compuestos dañinos o tóxicos. Los antioxidantes naturales se encuentran ampliamente distribuidos en alimentos de origen vegetal y animal, en relación a los sintéticos, estos no se producen a través de procesos químicos (**Serra Bisbal et al., 2020.; Linares Pipon & Zúñiga Garay, 2021**).

Revilla Flores (2021) señala que los antioxidantes desempeñan un papel importante en la protección del organismo contra el estrés oxidativo, actúan neutralizando especies reactivas de oxígeno (ERO) y evitando que causen daño oxidativo en moléculas celulares como ADN, proteínas y lípidos. Además, el envejecimiento o enfermedades cardiovasculares incluyendo al cáncer, han ido en incremento en los

últimos años, debido al aumento de producción de ERO o la disminución de antioxidantes en el cuerpo.

Las proteínas cuando son sometidas a procesos térmicos o químicos, tienen la capacidad de liberar péptidos con actividad biológica, actividades que reducen enfermedades degenerativas. Los péptidos antioxidantes se obtienen tras un proceso de digestión de proteínas, ya sean de origen vegetal o animal. Estos péptidos inhiben el daño oxidativo, ya sea en alimentos al usarlos como antioxidantes naturales o previniendo la oxidación de células tras su ingesta (**Segura Campos et al., 2013**).

Estudios realizados han demostrado que la quinua posee compuestos bioactivos que le otorga aquellas propiedades antioxidantes, citotóxicas, antiinflamatorias y antidiabéticas. Por otro lado, el amaranto posee compuestos fenólicos como el ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido p-hidroxibenzoico, que le atribuye aquellas características antioxidantes (**Jurado Cortés et al., 2021**).

Ayala Niño et al. (2019) mencionan que cuando los péptidos bioactivos están encriptados en proteína, se encuentran inactivos, pero, estos pueden ser liberados, ya sea por digestión *in vitro* o *in vivo*. Además, tras estudios realizados se ha demostrado que la actividad antioxidante del amaranto aumenta tras ser sometida a una digestión simulada, empleando como enzimas digestivas la pepsina y pancreatina, las mismas que se han caracterizado por liberar secuencias peptídicas con capacidad antioxidante.

Aluko & Monu (2003) alegan que péptidos de bajo peso molecular demuestran mejores resultados como antioxidantes, reduciendo la cantidad de radicales libres. Así mismo, péptidos de cadena corta son más activos en relación a péptidos de cadena larga.

1.1.9. Electroforesis

Moltalvo Navarro & Lugo Flores (2016) definen a la electroforesis como una técnica que separa biomoléculas como ácidos nucleicos o proteínas, empleando un campo eléctrico sobre una matriz porosa. Además, señalan que la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) es uno de los métodos de separación de proteínas más usados, emplea un campo eléctrico para separar las moléculas en base a su carga y tamaño. El

campo eléctrico provocará que las proteínas se cubran con una carga negativa, acción que generará su separación y posterior gravitación individual hacia el gel con carga positiva.

La electroforesis SDS-PAGE emplea dodecil sulfato de sodio como detergente, la técnica garantiza una completa desnaturalización de las proteínas a causa de la pérdida de su estructura tridimensional y un posterior tratamiento con 2-mercaptoetanol genera la reducción de los puentes disulfuro, provocando que las cadenas polipeptídicas se separen, la cadena hidrófoba del SDS buscará rodear las cadenas polipeptídicas, logrando que adquieran una carga negativa neta y generando su posterior aislamiento (Pérez Chabela et al., 2015). La técnica de SDS-PAGE puede emplear o no agentes reductores como β -mercaptoetanol, los agentes reductores permiten aumentar la solubilidad y estabilidad de las proteínas. Sin embargo, es recomendable su uso, puesto que evita la formación de puentes disulfuro entre proteínas, los cuales tienen lugar a pesos moleculares de entre 31 y 7 kDa (Martínez et al., 2017).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la digestibilidad gastrointestinal *in vitro* y actividad antioxidante de la proteína aislada de mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Elaborar tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).
- Obtener concentrados proteicos de tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) a valores de pH de 4 y 5.

- Cuantificar la concentración proteica de las mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).
- Simular la digestibilidad gastrointestinal *in vitro* en fase gástrica y fase duodenal de los concentrados proteicos.
- Determinar la capacidad antioxidante de los concentrados proteicos.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos mediante precipitación isoeléctrica a valores de pH de 4,0 y 5,0.

Hipótesis nula (H₀)

Las concentraciones de las harinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) no influyen significativamente en el rendimiento proteico.

Hipótesis alternativa (H_a)

Las concentraciones de las harinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) influyen significativamente en el rendimiento proteico.

Hipótesis nula (H₀)

Los pHs de precipitación de los concentrados proteicos de las harinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) no influyen significativamente en el rendimiento proteico.

Hipótesis alternativa (H_a)

Los pHs de precipitación de los concentrados proteicos de las harinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) influyen significativamente en el rendimiento proteico.

1.3.2. Actividad antioxidante del concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).

Hipótesis nula (H₀)

El concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) evaluado a diferentes concentraciones no presenta diferencias significativas frente a harinas crudas y antioxidante sintético BHT.

Hipótesis alternativa (H_a)

El concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) evaluado a diferentes concentraciones presenta diferencias significativas frente a harinas crudas y antioxidante sintético BHT.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1. Materia prima

- Granos de quinua
- Granos de amaranto

2.1.2. Reactivos

- Hidróxido de sodio
- Ácido clorhídrico
- Ácido etilendiaminotetraácetico (EDTA)
- Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)
- Ácido acético glacial
- Ácido acético
- Butil hidroxil tolueno (BHT)
- Cloruro de potasio
- Fosfato monopotásico
- Bicarbonato de sodio
- Cloruro de sodio
- Cloruro de magnesio hexahidratado
- Carbonato de amonio
- Pepsina gástrica porcina
- Cloruro de calcio
- Pancreatina (100U/mg)
- Bilis
- Dodecil sulfato de sodio (SDS)

- Glicina
- Acrilamida
- Tris-HCl
- Tetramethyletiendiamina (TEMED)
- Persulfato de amonio (PSA)
- 2-mercaptoetanol
- Glicerol puro
- Azul de bromofenol
- Metanol
- Azul de Comassie brilliant R-250
- Hexano

2.1.3. Equipos

- Centrifuga
- Plancha de calentamiento
- Refrigerador
- Ultracongelador
- Liofilizador
- Extractor de grasa
- Equipo de Dumas
- Estufa
- Molino eléctrico
- Incubadora
- Equipo de electroforesis
- Vórtex
- Micropipeta
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro
- pH-metro

2.1.4. Material Fungible

- Fundas ziploc
- Papel film
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Espátula
- Micro espátula
- Vasos de precipitación
- Barra de agitación magnético
- Tubos falcon
- Varilla de agitación
- Gradilla
- Pinza
- Envases de plástico
- Frascos de liofilización
- Mortero
- Tamiz
- Embudo
- Piseta
- Puntas de micropipeta

2.2. Métodos

2.2.1. Obtención de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*)

La obtención de harinas se realizó de acuerdo al método propuesto por **Núñez Villacís (2021)** con ligeras modificaciones. Se emplearon granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*). El proceso inició

con la recepción de granos, seguido de la selección y lavado con agua, luego se realizó la molienda de los granos hasta obtener una fina harina.

2.2.2. Obtención de las harinas precocidas

La obtención de harinas precocidas se realizó de acuerdo al método propuesto por **Núñez Villacís (2021)** con ligeras modificaciones. Para la pre cocción se empleó agua en relación 3:1 con la harina obtenida en el paso 2.2.1., luego se aplicó una cocción en marmita a una temperatura de 75 °C por 12 minutos, después se realizó un secado en un secador a una temperatura de 70 °C por 8 horas. Finalmente, se realizó una pulverización y tamizado a 150 µm en un tamiz de malla número 100 mesh.

La mezcla de harinas se realizó en relación quinua: amaranto, en proporciones de 25:75, 50:50 y 75:25.

2.2.3. Desengrasado de las harinas

Como paso previo a la obtención de concentrados proteicos, se extrajo la grasa de las mezclas de harinas obtenidas en el paso 2.2.2. Para que las muestras se puedan desengrasar deben tener una humedad máxima del 10%, de lo contrario se deben someter a un secado previo. El porcentaje de humedad se analizó en una balanza con infrarrojo. La extracción de grasa se realizó según el método AOAC Ed20, 2016 2003.06, el cual se basa en los métodos de Randall y Soxhlet. Se empleó un extractor semi-automático SER 148 Velp Scientific y dedales de extracción previamente tarados en una estufa a 70 °C por 1 hora. Los tiempos de extracción para cada alimento se encuentran definidos en el manual del equipo, el proceso inició con la inmersión de la muestra en hexano por un tiempo de 90 minutos, luego se realizó el lavado (60 minutos) con la finalidad de eliminar el solvente y finalmente la recuperación del solvente por 30 minutos. Concluido el tiempo de extracción, se enfriaron los vasos y dedales en un desecador, el dedal con la muestra fue secado a 70 °C hasta eliminar todo residuo de hexano (**Arriaga, 2015**).

2.2.4. Obtención de concentrados proteicos de tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) mediante precipitación isoeléctrica a valores de pH de 4 y 5

Se emplearon tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) en diferentes proporciones y desengrasadas. Además, se trabajó como blanco o control una mezcla de harina de quinua cruda y harina de amaranto cruda, en iguales proporciones a las harinas precocidas.

La obtención de concentrados proteicos mediante precipitación isoeléctrica se realizó de acuerdo al método propuesto por **Martínez & Añón (1996)** con ligeras modificaciones. Para el proceso se pesó 5 gramos de harina y se dispersaron en 50 ml de agua destilada, realizando el proceso por triplicado. Para lograr la solubilización se ajustó a un pH de 8 con adición de hidróxido de sodio 2 N manteniendo agitación constante durante una hora, luego se centrifugó a 4400 rpm por un tiempo de 45 minutos, con la finalidad de lograr la separación de la fracción soluble. Seguidamente se eliminó el precipitado y el sobrenadante se ajustó a pH de precipitación (pH 4,0 y 5,0), para el ajuste de pH se empleó ácido clorhídrico 1 M y se aplicó un constante movimiento por 10 minutos en una plancha agitadora Isotemp. El producto obtenido se almacenó en refrigeración a 4 °C durante 24 horas con la finalidad de conseguir la precipitación de la proteína, tras ello se eliminó el sobrenadante por centrifugación y el precipitado se congeló a -80 °C en envases estériles hasta su posterior liofilización. Finalmente, la liofilización se realizó en un Liofilizador Bench Top Pro a una temperatura de -50 °C y una presión de 0,2 Pa. Una vez liofilizada la muestra, se calculó el porcentaje de rendimiento de proteína en relación a la harina inicial, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{P_f}{P_o} * 100$$

Donde:

P_f : Peso final de la muestra tras el proceso de liofilización

P_o : Peso inicial de la mezcla de harinas

2.2.5. Cuantificación de la concentración proteica por el método Dumas

Se pesó 50 mg de los concentrados proteicos y se colocó en el equipo de Dumas (Velp Scientifica-NDA Series), se calibró el equipo con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y se seleccionó la curva de calibración estándar correspondiente. Para el rango de concentración se ajustaron factores de proteína, oxígeno y caudal de oxígeno de acuerdo al tipo de muestra, el equipo al ser automático arrojó valores de nitrógeno contenido en la muestra, los mismos que fueron considerados como proteína bruta (Jean et al., 2000).

2.2.6. Simulación de la digestibilidad gastrointestinal *in vitro* en fase gástrica y fase duodenal de los concentrados proteicos

La digestibilidad gastrointestinal *in vitro* se realizó en base al método expuesto por Minekus et al. (2014). La simulación se llevó a cabo tanto en fase gástrica como en fase duodenal. La preparación de los fluidos de digestión simulados se realizó en base a la Tabla 6.

Tabla 6.

Preparación de soluciones madre de fluidos de digestión simulados

	Fluido gástrico simulado (SGF) (mL)	Fluido intestinal simulado (SIF) (mL)
KCl	6,9	6,8
KH ₂ PO ₄	0,9	0,8
NaHCO ₃	12,5	42,5
NaCl	11,8	9,6
MgCl ₂ (H ₄ O)	0,4	1,1
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,5	--

Fuente: Minekus et al., 2014

2.2.6.1. Fase gástrica

Para la simulación en fase gástrica, se tomó 10 mL de muestra y se añadió 7,5 mL de solución madre de electrolito SGF, 1,6 mL de solución pepsina porcina de

25000U mL⁻¹ (pepsina de mucosa gástrica porcina 3200-4500 U mg⁻¹ de proteína, Sigma), 5µL de CaCl₂ 0,3 M, 0,2 mL de HCl 1 M para reducir el pH a 3,0 y finalmente, 0,695 µL de agua. Para simular el proceso de digestión gástrica, en una incubadora se mantuvo la muestra a 37 °C por 2 horas, realizando reajustes constantes de pH con HCl 1 M durante la digestión.

2.2.6.2. Fase duodenal

Para la digestión duodenal, se mezcló 20 mL de la muestra de digestión gástrica obtenida con 11 mL de solución madre de electrolitos SIF de 50:50 (v/v), también se añadió 5,0 mL de solución de pancreatina 800 U mL⁻¹ compuesta por solución madre de electrolitos SIF en actividad de tripsina (pancreatina de páncreas porcino, Sigma), 2,5 mL de bilis fresca, 40 µL de CaCl₂ 0,3 M, se requirió de la adición de 0,15 mL de NaOH 1M para neutralizar la mezcla a pH 7,0 y 1,31 mL de agua. Para simular el proceso de digestión duodenal, se empleó una incubadora para mantener la muestra a 37 °C por 2 horas, el pH en algunos casos requirió de un ajuste durante la digestión, por lo que se realizaron pruebas antes de la digestión para determinar el pH y la cantidad de NaOH-HCl requerida. Finalmente, para determinar el avance de la hidrólisis se empleó electroforesis en gel SDS-PAGE en presencia y ausencia de 2-mercaptoetanol.

2.2.7. Determinación de la capacidad antioxidante por el método TBARS

La actividad antioxidante se realizó de acuerdo al método propuesto por **Guzmán-Chozas et al. (1997)** con ligeras modificaciones. Se disolvió concentrado proteico en agua destilada, para ello se emplearon cuatro concentraciones de 100, 200, 500 y 1000 µg/mL. Luego, en un tubo eppendorf de 2 mL se colocó 500 µL de muestra y 500 µL de aceite de oliva oxidado (para lograr la oxidación en el aceite se calentó en una estufa a 68 °C por un tiempo estimado de 10 días). Tras ello, se colocaron las muestras en una incubadora a 28 °C por 24 o 48 horas y después de ello se añadió 1 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 0,067 M en ácido acético glacial al 90%, para el control

positivo se empleó aceite de oliva no oxidado y para el control negativo aceite de oliva oxidado.

Control positivo: Se añadió 500 µL de agua destilada, 500 µL de aceite de oliva no oxidado y 1 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) al 1%.

Control negativo: Se añadió 500 µL de agua destilada, 500 µL de aceite de oliva oxidado y 1 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) al 1%.

Finalmente, en una incubadora se mantuvo las muestras a 95 °C por 1 hora y en un espectrofotómetro se realizaron las lecturas de absorbancia a 532 nm. Para comparar los resultados obtenidos se empleó antioxidante sintético BHT y se le sometió al mismo procedimiento. Para el cálculo del porcentaje de actividad antioxidante de los concentrados proteicos se empleó la siguiente fórmula:

$$\%AA = \frac{C - M}{C} * 100$$

Donde:

AA: Inhibición de peroxidación lipídica o actividad antioxidante (%)

C: Promedio de la absorbancia del aceite oxidado

M: Absorbancia de la muestra

2.2.8. Electroforesis SDS-PAGE

Se empleó el método descrito por **Laemmli (1970)** con ligeras modificaciones, para ello se aplicó la técnica analítica de electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), además se utilizó el equipo Bio-Rad, modelo Mini PROTEAN II a un voltaje constante de 200V. La preparación de las soluciones buffer se realizaron en base a la Tabla 7 y de los geles de electroforesis según la Tabla 8 y Tabla 9.

Preparación de la muestra: En tubos eppendorf de 1,5 mL, se pesaron 10 mg de muestra de concentrados proteicos de la mezcla de harinas precocidas y harinas crudas (Control) a pH 4,0 de precipitación (pH que arrojó un mayor rendimiento y

cuantificación proteica), se añadió 1 mL de agua destilada a cada tubo y seguidamente se realizó la agitación en el vórtex. Para el concentrado proteico de harinas precocidas se utilizaron dos tubos eppendorf correspondientes al concentrado, digerido gástrico y digerido duodenal y a todos se añadió 200 μ L de solución, al primer tubo se colocaron 200 μ L de buffer con agente reductor y al segundo tubo se colocaron 200 μ L de buffer sin agente reductor, las muestras de harinas crudas se realizaron únicamente en presencia de agente reductor debido a que su función principal fue llevar un control frente a las harinas precocidas. Tras ello las muestras fueron calentadas en una microincubadora a 90 °C por 5 minutos a 500 rpm.

Tabla 7

Preparación de las soluciones buffer

	Buffer con agente reductor	Buffer sin agente reductor
Agua destilada (mL)	4,8	4,8
Tris-HCl 0,5 M (pH 6,8) (mL)	1,2	1,2
Glicerol puro (mL)	1,0	1,0
Dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% (mL)	1,2	1,2
Mercaptoetanol (mL)	0,6	---
Azul de bromofenol (g)	5	5

Fuente: Laemmli, 1970

Tabla 8

Formulación para la preparación del gel separador o gel inferior a una concentración de 12%

Gel separador al 12%	
Agua destilada	1,425 mL
Tris-HCl a pH 8,8	3 mL
Acilamida al 30%	3 mL
Dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10%	75 μ L
Tetramethyletiendiamina (TEMED)	9 μ L
Persulfato de amonio (PSA) al 10%	30 μ L

Fuente: Laemmli, 1970

Tabla 9

Formulación para la preparación del gel compactador o gel superior a una concentración de 4%

Gel compactador al 4%	
Agua destilada	2,2 mL
Tris-HCl a pH 6,8	0,42 mL
Acrilamida al 30%	0,7 mL
Dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10%	3,3 µL
Tetramethyletiendiamina (TEMED)	6 µL
Persulfato de amonio (PSA) al 10%	20 µL

Fuente: Laemmli, 1970

Para la preparación del gel separador se tomaron 4,75 mL de la mezcla y se colocaron entre los cristales, se completó con agua destilada y se dejó en reposo hasta la formación del gel. Luego, con el gel superior o compactador se llenó el espacio entre los cristales y se colocó la peinilla, se mantuvo en reposo hasta la gelificación y se retiró la peinilla, seguido a ello se colocó en el equipo de electroforesis y se llenó el recipiente con buffer running, compuesto por 15 g/l de glicina, 3 g/l de Tris-HCl y 1 g/l de SDS.

Se añadió a cada pocillo 15 µL de cada muestra proteica y 10 µL de estándar de proteínas con pesos moleculares de 11 a 180 kDa. Para la corrida de geles se aplicó un voltaje de 200 V durante 30 minutos, para teñir el gel resultante se utilizó una solución de azul de Comassie brilliant R-250 compuesta por 50 mL de metanol, 10 mL de ácido acético, 40 mL de agua y 0,1% de azul de Comassie brilliant R-250 durante un tiempo estimado de 2 horas y finalmente para desteñir el gel se utilizó una solución compuesta por 50% metanol, 45% agua destilada y 5% ácido acético y tras 24 horas se realizó su posterior lavado con agua destilada.

2.2.9. Diseño experimental

Para el análisis de resultados y aceptación o rechazo de las hipótesis se utilizará el diseño experimental A*B, seguido de la “Prueba de Tukey”. El análisis estadístico empleó tres réplicas para cada análisis de resultados.

- **Para la concentración de las harinas se estudiaron los siguientes factores:**

Factor A: Concentración de harinas precocidas de quinua y amaranto

a ₀	25 % Harina de quinua; 75% Harina de amaranto
a ₁	50 % Harina de quinua; 50% Harina de amaranto
a ₂	75% Harina de quinua; 25% Harina de amaranto

Factor B: pHs de precipitación proteica

b ₀	4
b ₁	5

- **Para la actividad antioxidante se estudiaron los siguientes factores:**

Factor A: pH y control

a ₀	Harina precocida (pH 4)
a ₁	Harina cruda (Control 1 pH 4)
a ₂	Antioxidante BHT (Control 2)

Factor B: Concentraciones de la muestra y controles

b ₀	100 µg/mL
b ₁	200 µg/mL
b ₂	500 µg/mL
b ₃	1000 µg/mL

CAPÍTULO IV

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Mezclas de harinas crudas y precocidas

En la Tabla 10 y Tabla 11, se muestran las mezclas de harinas crudas y harinas precocidas, respectivamente. Las harinas poseen una granulometría de 149 μm , para ello se empleó un tamiz número 100 mesh.

La mezcla 1 corresponde a 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, la mezcla 2 se divide en 50% harina de quinua y 50% harina de amaranto y finalmente la mezcla 3 está compuesta por 75% harina de quinua y 25% harina de amaranto. Estas mezclas son iguales tanto en harinas crudas y harinas precocidas.

Tabla 10

Mezcla de harinas crudas de quinua y amaranto

	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Granulometría (μm)
Harina de quinua	25%	50%	75%	149
Harina de amaranto	75%	50%	25%	

Tabla 11

Mezcla de harinas precocidas de quinua y amaranto

	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Granulometría (μm)
Harina precocida de quinua	25%	50%	75%	149
Harina precocida de amaranto	75%	50%	25%	

Se pretendía tamizar a un tamaño de granulometría de 300 μm (50 mesh), sin embargo, la harina poseía un tamaño de partícula grande. **Carrera Borja & Paredes Escobar (2023)** obtienen harinas precocidas de quinua y amaranto empleando un tamaño de malla de 100 mesh. No obstante, la norma **NTE INEN 616 (2006)** estipula que para obtención de harinas, se deberá emplear como mínimo un tamiz de 210 μm (número 70 mesh), por lo que las harinas obtenidas en la presente investigación cumplen con los requisitos establecidos.

3.1.2. Contenido de grasa y humedad

Como paso previo a la obtención de la proteína aislada o aislamiento de proteínas es necesario desengrasar la harina. **Damodaran (2010)** señala que el proceso de desengrasado de harinas es importante sobre todo al querer obtener un aislado proteico, la presencia de grasa tiende a formar emulsiones. El desengrasado implica eliminar la grasa y lípidos de la harina, lo que lleva a obtener un aislado más puro y con una mayor concentración proteica, también hay que considerar que para el proceso de desengrasado el contenido de humedad de la muestra debe ser inferior al 10% (**Rodríguez Almazán et al., 2016**). Por otro lado, existen varias razones por el que es recomendable eliminar el contenido de grasa de una harina, entre ellas está la eliminación de componentes responsables de olores y sabores no deseados, empleados sobre todo para la elaboración de suplementos proteicos; al eliminar la grasa se pueden obtener aislados proteicos con una textura más suave y uniforme y propiedades funcionales mejoradas, como la facilidad de dispersión en líquidos. Además, el desengrasado aumenta la estabilidad del concentrado proteico, debido a que la grasa con el paso del tiempo se vuelve rancia, lo que disminuye su tiempo de vida útil (**Chaparro et al., 2014.; Ortega Rodrigo, 2019**).

En la Tabla 12 y Tabla 13 se presenta el contenido de humedad y grasa de las harinas precocidas y harinas crudas, respectivamente. El contenido de humedad de harinas precocidas fue de 9,48%, 8,17% y 4,32% para mezclas de harinas en proporciones quinua: amaranto de 25:75, 50:50 y 75:25, respectivamente. Al comparar con las mezclas de harinas crudas en iguales proporciones, se observó cómo estas últimas poseen un contenido de humedad ligeramente superior, valores equivalentes a 9,91% proporción 25:75, 8,95% proporción 50:50 y 7,30% proporción 75:25. La norma **NTE INEN 1737 (2016)** estipula que para harina de maíz precocida el contenido máximo

de humedad debe ser de 13,5%, por lo que se deduce que las tres mezclas de harinas precocidas poseen un contenido óptimo de humedad.

Tabla 12

Contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

Muestra	Humedad* (%)	Grasa* (%)
Proporción quinua:		
amaranto		
25:75	9,48 ± 0,01	2,45 ± 0,02
50:50	8,17 ± 0,04	4,19 ± 0,05
75:25	4,32 ± 0,06	7,31 ± 0,06

*Promedio de tres réplicas ± Desviación estándar

Tabla 13

Contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas crudas (Control) de quinua y amaranto

Muestra	Humedad* (%)	Grasa* (%)
Proporción quinua:		
amaranto		
25:75	9,91 ± 0,08	2,68 ± 0,04
50:50	8,95 ± 0,08	4,93 ± 0,03
75:25	7,30 ± 0,04	7,45 ± 0,04

*Promedio de tres réplicas ± Desviación estándar

Gajula et al. (2009) señalan que las harinas crudas tienden a poseer una mayor humedad debido a que se obtienen directamente de la molienda de granos o semillas sin aplicar otro tratamiento adicional, el grado de humedad aumenta si las harinas no son almacenadas o envasadas adecuadamente. Por otro lado, las harinas precocidas al someterse a un tratamiento térmico, aumentan su vida útil. Sin embargo, existen varios factores que alteran la humedad de una harina como el tipo de grano empleado, condiciones de almacenamiento y tiempo transcurrido desde su procesamiento.

En las investigaciones realizadas por **Toro et al. (2011)** y **Bianco D et al. (2014)** para harinas precocidas de maíz y medido por termobalanza infrarrojo, obtienen valores de 9,29% y 9,87%, respectivamente. No obstante, difiere con el valor de 4,7% para harina precocida de quinua, obtenido por **Gutiérrez Paz et al. (2022)** y con **Gajula et al. (2009)** que reportan en su investigación con harina precocida de trigo una humedad entre 3,9% y 7,4%. Al comparar con los resultados obtenidos en la investigación, se deduce que el contenido de humedad de las harinas es similar con varios estudios realizados para harinas precocidas y crudas.

En cuanto al contenido de grasa, las harinas precocidas estudiadas obtuvieron valores de 2,45%, 4,19% y 7,31% para proporciones quinua: amaranto de 25:75, 50:50 y 75:25, respectivamente. Por otro lado, al comparar con las muestras control de harinas crudas a iguales proporciones, las harinas precocidas obtuvieron contenidos de grasa ligeramente inferiores frente a las harinas crudas, con valores de 2,68%, 4,93% y 7,45%. Estos resultados concuerdan con lo reportado por **Rodríguez Almazán et al. (2016)** & **Gutiérrez Paz et al. (2022)**, que señalan que las harinas precocidas suelen poseer un contenido de grasa ligeramente inferior en comparación con las harinas crudas, debido a que durante los procesos de precocción se eliminan algunas impurezas como partículas de germen y salvado, presentes en la harina cruda, estas impurezas poseen ligeros porcentajes de grasa.

Gutiérrez Paz et al. (2022) en su investigación obtuvieron para la harina de quinua precocida un porcentaje de grasa de 7,4%, valor similar a la mezcla de proporción quinua: amaranto 75:25. **Vera et al. (2014)** señalan que el contenido de lípidos en la quinua varía entre 3,67% - 8,92% y **Trino et al. (2017)** mencionan que en el amaranto va del 6,1 % – 8,0 %, el contenido de grasa se debe a su alto porcentaje de ácidos grasos de naturaleza insaturada.

3.1.3. Obtención de concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto y análisis del rendimiento

Los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto se obtuvieron mediante solubilización y precipitación isoelectrica de las proteínas. Se

emplearon mezclas de harinas previamente desengrasadas y en proporciones quinua: amaranto de 25:75, 50:50 y 75:25. Para la solubilización de las proteínas, se realizó a pH de 8,0 y se empleó solventes altamente alcalinos como el Hidróxido de sodio, para la precipitación de las proteínas el pH fue llevado a 4,0 y 5,0 con la ayuda de Ácido clorhídrico 1M.

La extracción alcalina es uno de los métodos tradicionales y más empleado para extraer proteínas de semillas. El método consiste en extraer proteínas de harinas previamente desengrasadas, empleando álcali diluido para la solubilización de proteínas y seguido de ácido diluido para la precipitación isoelectrica (**González Pérez, 2020**).

Los ácidos y las bases pueden afectar la solubilidad y precipitación de proteínas debido a su capacidad de interacción. En el caso de las bases, estas aumentan la solubilidad de las proteínas en agua, debido a que se adicionan iones hidroxilo (OH^-) que tienden a interactuar con los grupos ácidos de las proteínas, neutralizándolos y formando sales solubles. Las bases logran aumentar el pH de la solución, lo que provoca que la carga neta negativa de las proteínas disminuya y facilite su interacción con el agua, esto genera que las proteínas sean más solubles, debido a que las cargas negativas se repelen entre sí y evitan la precipitación de proteínas. Sin embargo, concentraciones fuertes de bases o pHs demasiados alcalinos, llevan a la desnaturalización y disolución de las proteínas, debido a que las bases fuertes pueden afectar las interacciones estructurales de las proteínas, generando una ruptura de los enlaces de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals que son los responsables de mantener la estructura tridimensional de la proteína. Por otro lado, los ácidos al adicionar iones de hidrógeno (H^+) disminuyen la solubilidad de las proteínas, los ácidos interactúan con los grupos básicos de las proteínas, conduciendo a una disminución del pH de la solución y un aumento de la carga neta positiva de las proteínas, provocando que las proteínas sean menos solubles, las cargas positivas se atraen entre sí y favorecen la formación de precipitados, cuando las proteínas están cargadas positivamente repelen el agua y dan lugar a su precipitación e insolubilidad. De igual manera, si la concentración del ácido es demasiada alta o el pH demasiado ácido las proteínas tienden a desnaturalizarse, generando pérdidas en la estructura tridimensional e interferencias en la formación de precipitados (**Badui Dergal, 2006.; Jarpa-Parra et al., 2014.; Ames et al., 2017**).

El tiempo de extracción es otro de los factores importantes a considerar. **Arango Bedoya et al. (2012)** mencionan que un mayor tiempo de contacto entre el soluto y solvente garantizan un mayor rendimiento proteico, por lo que el tiempo óptimo de solubilización de proteínas es de 60 minutos. **Mercado R. et al. (2015)** señalan que factores como la relación harina: solvente, temperatura y valores de pHs de extracción y precipitación, influyen considerablemente sobre el contenido de proteína recuperado.

Se determinó por triplicado el porcentaje de rendimiento para cada tratamiento, resultados evidenciados en la Tabla 14. El rendimiento fue calculado en tres mezclas de harinas precocidas a pHs de 4,0 y 5,0 para cada mezcla, dicho rendimiento fue calculado a partir del peso inicial de la harina y el peso final del concentrado proteico tras someterse a un proceso de liofilización.

El rendimiento proteico de harinas precocidas puede variar dependiendo el proceso de precocción aplicado. En general, el rendimiento proteico de harinas precocidas tiende a ser similar o ligeramente superior en relación al de harinas crudas, debido a que el tratamiento térmico ayuda a desnaturalizar y solubilizar las proteínas presentes en la harina, alterando su estructura tridimensional nativa y facilitando su extracción y concentración. Además, el rendimiento proteico puede ser afectado por varios factores, como las condiciones de procesamiento o el tipo de cultivo empleado para la obtención de harina (**Mejía-López et al., 2017**).

Badui Dergal (2006) señala que la desnaturalización expone regiones hidrofóbicas de la proteína, regiones que normalmente se encuentran unidas en el interior de la estructura nativa al medio acuoso. Por otro lado, una vez desnaturalizadas las proteínas y expuestas a solventes adecuados de extracción, tienden a separarse con facilidad de otros componentes no proteicos como fibra, almidón y lípidos, empleando técnicas de separación como centrifugación o filtración.

En la Tabla 14, se muestran los resultados de la obtención de concentrados proteicos, donde se observa que el mayor rendimiento se encontró en la proporción quinua: amaranto 25:75 y a pH de 4,0, con un porcentaje de 7,41%, mientras que el menor rendimiento se obtuvo en la proporción 75:25 y pH de 5,0, siendo este de 2,21%. Al comparar con el porcentaje de rendimiento de las muestras control se observa como las harinas precocidas poseen un rendimiento notablemente superior (las muestras

control contienen mezclas de harinas crudas en iguales proporciones a las harinas precocidas y sometidas a iguales condiciones de extracción).

Tabla 14

Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas a diferentes valores de proporciones y pHs de precipitación

pH de precipitación	Muestra Proporción quinua: amaranto (%)	% Rendimiento por cada 5 g de muestra de harina precocida*	% Rendimiento Control (Mezcla harina cruda)
pH 4	25:75	7,41 ± 0,02	6,04
	50:50	5,73 ± 0,04	4,34
	75:25	3,46 ± 0,07	2,34
pH 5	25:75	6,04 ± 0,01	5,05
	50:50	4,52 ± 0,08	4,31
	75:25	2,32 ± 0,06	2,21

*Promedio de tres réplicas ± Desviación estándar

Gutiérrez Paz et al. (2022) en su investigación con harina precocida de quinua y bajo condiciones semejantes de extracción de proteína, mencionan que a pHs básicos se produce la solubilidad de proteínas, sin embargo, han encontrado que los valores más altos de proteína se encuentran a pH de solubilización de 11,0 y posterior acidificación del sobrenadante (proteína soluble) a pH 4,5. No obstante, demuestran que una mayor concentración de proteínas se obtiene por precipitación isoelectrica y empleando además ultrasonido en harina desalmidonada, lo que provoca un incremento sobre el rendimiento de extracción. El almidón se encuentra en alto porcentaje en la quinua, por lo que el desalmidonado ayuda a una mayor precipitación y concentración de proteínas.

La escasa información de investigación acerca de la proteína extraída de mezclas de harinas precocidas, ha llevado a comparar los resultados con rendimientos proteicos de harinas crudas. **Quelal et al. (2019)** en su investigación con harina de quinua cruda

y metodología similar, mencionan que la proteína de quinua precipita a pHs de entre 4,5 a 5,3, por lo que en su estudio alcanzan un mayor rendimiento a pH de solubilización de 9,0 empleando NaOH 1N y precipitación a pH de 4,5 con HCl 1N, obteniendo un valor de rendimiento de 10,47%. Por otro lado, **Toapanta Paredes (2016)** encontró que el mayor rendimiento proteico en harina de quinua se obtiene a pH de solubilización de 8,0 y pH de precipitación de 4,0, valor de rendimiento correspondiente a 6,29%. Al comparar con los resultados obtenidos, se observa como la mezcla 25% harina de quinua precocida y 75% harina de amaranto precocida obtenidos a pHs de solubilización 8,0 y pHs de precipitación 4,0 y 5,0, poseen un rendimiento similar al reportado en otras investigaciones, además, se conoció como el pH de solubilización también genera variación en cuanto al porcentaje de rendimiento proteico.

El análisis de ANOVA aplicado a un nivel de significancia del 5% (valor- $p < 0,05$) (Tabla 36), presentó diferencias significativas en cada uno de los factores (Factor A: mezclas de harinas precocidas proporción quinua: amaranto y Factor B: pHs de precipitación) como también entre la interacción AB, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se deduce que al emplear una mezcla de harinas en una determinada proporción y un determinado pH de precipitación, existirá variabilidad sobre los resultados correspondientes al porcentaje de rendimiento. Además, al existir una interacción entre ambos factores, se estima que el aumento o cambio de un factor manifestará cambios sobre el otro factor.

La prueba de múltiples rangos para el Factor A (mezclas de harinas precocidas proporción quinua: amaranto) (Tabla 15) muestra como la mezcla de harinas relación quinua: amaranto correspondiente a la proporción 25:75, obtiene el valor más significativo, por lo que se estima que aquella proporción obtiene un mayor rendimiento de extracción proteica. Por otro lado, la prueba de múltiples rangos para el Factor B (pHs de precipitación) (Tabla 16) muestra como a un pH de precipitación de 4 se obtiene un mayor rendimiento proteico. Para los grupos homogéneos se presentan diferencias significativas en cuanto a las medias, tanto para las mezclas de harinas precocidas como para los pHs de precipitación.

Tabla 15.*Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Rendimiento por Factor A*

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
25:75	6	6,72257	0,0214777	A
50:50	6	5,125	0,0214777	B
75:25	6	2,88725	0,0214777	C

Fuente: Statgraphics, 2023**Tabla 16***Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Rendimiento por Factor B*

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
pH 4	9	5,53018	0,0175364	A
pH 5	9	4,29303	0,0175364	B

Fuente: Statgraphics, 2023

En el gráfico de interacciones (Figura 1), donde Factor A (mezclas de harinas precocidas proporción quinua: amaranto) corresponde a $a_0= 25:75$, $a_1= 50:50$, $a_2= 75:25$ y Factor B (pHs de precipitación) donde $b_0= 4,0$ y $b_1= 5,0$, se observa como la media del porcentaje de rendimiento proteico es mayor en la combinación correspondiente a la mezcla de harinas precocidas proporción 25:75 y pH de precipitación 4,0 (a_0-b_0), seguido de las combinaciones a_0-b_1 , a_1-b_0 , a_1-b_1 , a_2-b_0 y a_2-b_1 . De esta forma, se determina que, para extraer un mayor rendimiento proteico, se debe realizar una mezcla de harinas en proporción de 25% harina de quinua precocida y 75% harina de amaranto precocida, además de pH 4,0 de precipitación. La combinación que mostró un menor rendimiento proteico fue la proporción 75:25 y pH 5 (a_2-b_1). El análisis realizado coincide con los datos de rendimiento proteico reportados con anterioridad en la Tabla 14.

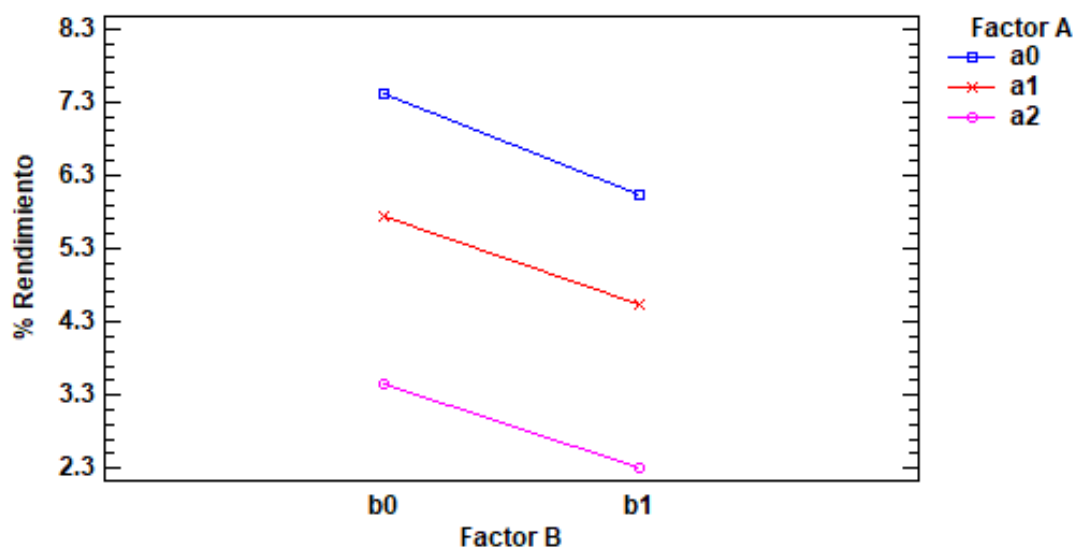


Figura 1. Gráfico de interacciones para el porcentaje de rendimiento proteico entre el Factor A: mezcla de harinas precocidas relación quinua: amaranto ($a_0= 25:75$, $a_1= 50:50$, $a_2= 75:25$) y Factor B: pHs de precipitación ($b_0= 4,0$ y $b_1= 5,0$).

Fuente: Statgraphics, 2023

3.1.4. Cuantificación de proteína presente en concentrados proteicos extraídos de mezclas de harinas precocidas

Se determinó el contenido proteico presente en tres mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto mediante el método Dumas, el análisis fue realizado a cada mezcla que arrojó un mayor rendimiento proteico en cuanto a pH, el mayor rendimiento se dio a pH 4 para cada una de las tres proporciones (Tabla 14).

En la Tabla 17 se muestra que el mayor porcentaje de proteína corresponde a la mezcla quinua: amaranto proporción 25:75 con un valor de 55,73%; la proporción 50:50 obtuvo un contenido proteico de 52,26% y el menor contenido proteico fue para la proporción 75:25 con un valor de 50,51%.

Tabla 17

Porcentaje de proteína de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones mediante el método Dumas

Muestra	Peso	Proteína*
Proporción	[mg]	[%]
quinua: amaranto		
25:75	50,61	55,73 ± 0,09
50:50	50,82	52,26 ± 0,08
75:25	50,45	50,51 ± 0,15

*Promedio de tres réplicas ± Desviación estándar

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB, 2023

Carrera Borja & Paredes Escobar (2023) en su investigación con un suplemento alimenticio a partir de harinas precocidas de quinua y amaranto, obtienen un porcentaje de proteína de 38,9%, existen diferencias significativas con la presente investigación debido a razones como las proporciones empleadas en las mezclas de harinas y la metodología de extracción.

Gutiérrez Paz et al. (2022) al trabajar con aislados proteicos extraídos de harina de quinua precocida y desengrasada y empleando similar metodología de extracción, han encontrado que el mayor contenido de proteína se obtiene a pH de solubilización de 12 con un valor correspondiente a 68,0%, un pH de 11 arroja un contenido de proteína de 56,4% y un pH de 13 un 40,1% de proteína, considerando que para todos los tratamientos emplearon un pH de precipitación de 4,5. Los valores de 68,0% y 56,4% son ligeramente superiores a los registrados en la presente investigación.

La escasa información de investigación sobre el contenido proteico en mezclas de harinas precocidas, ha llevado a comparar los resultados con rendimientos proteicos de harinas crudas. **Toapanta Paredes (2016)** realizó la cuantificación proteica de un aislado proteico obtenido de harina cruda de quinua, valor correspondiente a 52,4%, el aislado fue obtenido a un pH de solubilización de 8 y pH de precipitación de 4. Por

otro lado, **Castaño Gonzalez & Riveros Hurtado (2022)** encontraron para el concentrado proteico de amaranto un porcentaje de proteína de 32,4%, sin embargo, difiere con los valores obtenidos por **Malik & Singh (2021)** correspondiente al amaranto desengrasado con un valor de 53,77% de proteína. Al comparar la cuantificación proteica de concentrados proteicos de harinas precocidas con resultados bibliográficos de cuantificación proteica de concentrados proteicos de harinas crudas, se observa como para las harinas precocidas el contenido de proteína de la proporción 25:75 es ligeramente superior y las proporciones 50:50 y 75:25 poseen un contenido similar o ligeramente inferior. A excepción del contenido de proteína registrado por **Castaño Gonzalez & Riveros Hurtado (2022)**, donde los resultados obtenidos en la presente investigación superan considerablemente.

3.1.5. Digestibilidad gastrointestinal *in vitro*

El proceso de digestibilidad gastrointestinal *in vitro* se llevó a cabo en fase gástrica y duodenal, para ello se empleó el concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas en proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto a pH 8,0 de solubilidad y pH 4,0 de precipitación de proteínas, esto debido a que fueron las condiciones que arrojaron un mayor rendimiento y cuantificación proteica frente a los demás tratamientos. Para la simulación se emplearon fluidos gástricos, intestinales, sales y enzimas; para la fase gástrica se empleó enzima pepsina, simulación del medio a pH 3,0 e incubación a 37 °C por 120 minutos y para la fase duodenal se trabajó con enzima pancreatina, bilis, simulación del medio a pH 7,0 e incubación a 37 °C por 120 minutos. Además, se trabajó con concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas a iguales proporciones y condiciones de extracción, con la finalidad de llevar un control y comparación en cuanto a la digestión.

La caracterización del concentrado proteico de harinas precocidas de quinua y amaranto se realizó mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). La técnica se llevó a cabo en presencia y ausencia de 2-mercaptoetanol como agente reductor. Además, se empleó un estándar de proteínas con pesos moleculares de 2 a 250 kDa y una muestra de concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas en iguales proporciones a las harinas

precocidas, para la muestra de harina cruda se analizó únicamente en presencia de agente reductor, con la finalidad de llevar un control electroforético frente a las harinas precocidas.

La fase oral no fue incluida debido a que está relacionada principalmente con la digestión de carbohidratos, especialmente del almidón, este componente es descompuesto por la enzima amilasa presente en la saliva. Dado que la digestión de carbohidratos no es el objetivo principal de análisis, se realizó un enfoque en etapas posteriores que si involucran la hidrólisis de proteínas como la fase gástrica y fase duodenal (**Minekus et al., 2014.; Brodkorb et al., 2019**).

Gutiérrez Paz et al. (2022) mencionan que la digestibilidad de las proteínas es mayor tras la cocción de granos o harinas, debido a que bajo la acción de calor las proteínas tienden a desnaturalizar, afectando a las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, provocando que pasen de un medio ordenado a uno desordenado y logrando un aumento en cuanto a disponibilidad y digestibilidad.

La Figura 2 y Tabla 18 registran los resultados de la electroforesis SDS-PAGE del concentrado proteico de harina precocida en presencia de un agente reductor. El perfil de proteínas del concentrado proteico reporta bandas con pesos moleculares de entre 7 a 52,2 kDa, con la presencia de alrededor de 9 tipos de proteínas en base a su peso molecular. Al realizar el proceso de digestibilidad *in vitro*, se observa que tras la digestión gástrica permanecen proteínas con pesos moleculares (kDa) de 7; 27,9; 31,5 y 52,2. Por otro lado, el digerido duodenal posee una banda proteica de 27,9 kDa.

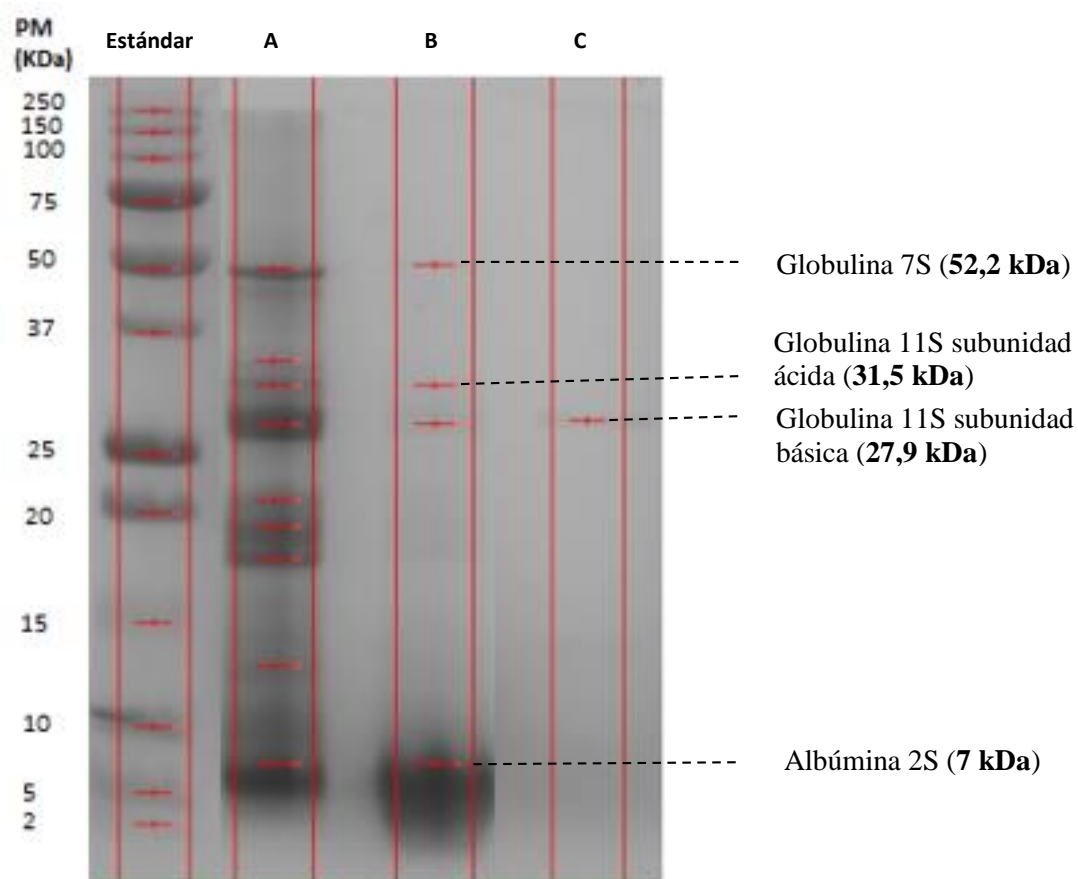


Figura 2. Electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB, 2023

Tabla 18

Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado

Banda	Estándar	Concentrado proteico (kDa)	Digestión gástrica (kDa)	Digestión duodenal (kDa)
1	250	52,2	52,2	27,9
2	150	34,6	31,5	-
3	100	31,5	27,9	-
4	75	27,9	7	-
5	50	22,6	-	-
6	37	20,4	-	-
7	25	18,8	-	-
8	20	13,6	-	-
9	15	7	-	-
10	10	-	-	-
11	5	-	-	-
12	2	-	-	-

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB, 2023

Vilcacundo et al. (2017) señalan que las semillas de quinua poseen globulinas y albúminas en su composición, con porcentajes de 37% y 35% del total de proteínas y contenidos bajos de prolaminas (0,5-7,0%). Además, menciona que la quinua y amaranto están compuestos por grupos de globulinas o glicoproteínas 7S con pesos moleculares (PM) de entre 42 a 58 kDa. De igual forma, **Ayala Niño et al. (2019)** corroboran la información, además señalan que la globulina 7S se localiza en baja cantidad en el amaranto y se divide en tres subunidades denominadas α (57-69 kDa), α' (57-72 kDa) y β (42-52 kDa). Al comparar con los resultados obtenidos se encuentra que el concentrado proteico de harina precocida y el digerido gástrico poseen bandas de 52,15 kDa, por lo que se deduce la posible presencia de globulinas 7S.

Para las globulinas 11S, **Vilcacundo et al. (2017)** manifiestan que en la quinua reciben el nombre de chenopodina y **Ayala Niño et al. (2019)** señalan que en el amaranto se

denominan amarantina, siendo la fracción 11S el principal componente de aislados proteicos y principal almacén de proteína presente en el grano de amaranto.

Las globulinas 11S se caracteriza por dividirse en dos grupos heterogéneos de polipéptidos, con pesos moleculares de 29,0 kDa a 35,0 kDa para la subunidad de naturaleza ácida (AS) y pesos de 18,0 a 28,0 kDa para la subunidad de naturaleza básica (AB) (**Dávalos et al., 2008**, como se citó en **López Yagual, 2019**). Al comparar con los resultados, se establece la presencia de globulinas 11S de naturaleza ácida para el concentrado proteico (31,5 kDa y 34,6 kDa) y digerido gástrico (31,54 kDa). Además, la presencia de globulinas 11S de naturaleza básica para el concentrado proteico (20,4 kDa; 22,6 kDa y 27,9 kDa), digerido gástrico (27,9 kDa) y digerido duodenal (27,9 kDa).

Vilcacundo et al. (2017) señala que las albuminas 2S poseen bajos pesos moleculares, siendo estas inferiores a 15 kDa. De acuerdo a los resultados, se evidencia la presencia de bandas con pesos moleculares de 7 kDa y 13,6 kDa para el concentrado proteico y 7 kDa para el digerido gástrico, correspondiente a albuminas 2S.

Carrera Borja & Paredes Escobar (2023) en su investigación con un suplemento alimenticio a base de harinas precocidas de quinua y amaranto, establecen tras una digestión gástrica y duodenal la presencia de trazas de globulinas 11S y albúminas 2S con resistencia a la acción de las enzimas digestivas pepsina y pancreatina.

La Figura 3 y Tabla 19 registran los resultados de la electroforesis SDS-PAGE del concentrado proteico de harina precocida en ausencia de agente reductor. El perfil de proteínas del concentrado proteico reporta bandas con pesos moleculares de 7 y 13,6 kDa (albuminas 2S), 34,6 kDa (globulinas 11S naturaleza ácida), 42,7 kDa y 46,1 kDa (globulinas 7S). Luego de la digestión gástrica permanecen proteínas con pesos moleculares de 7 kDa (correspondiente a albuminas 2S); 42,7 kDa y 52,2 kDa (correspondientes a globulinas 7S). Por otro lado, el digerido duodenal posee una banda proteica de 27,9 kDa perteneciente a globulinas 11S.

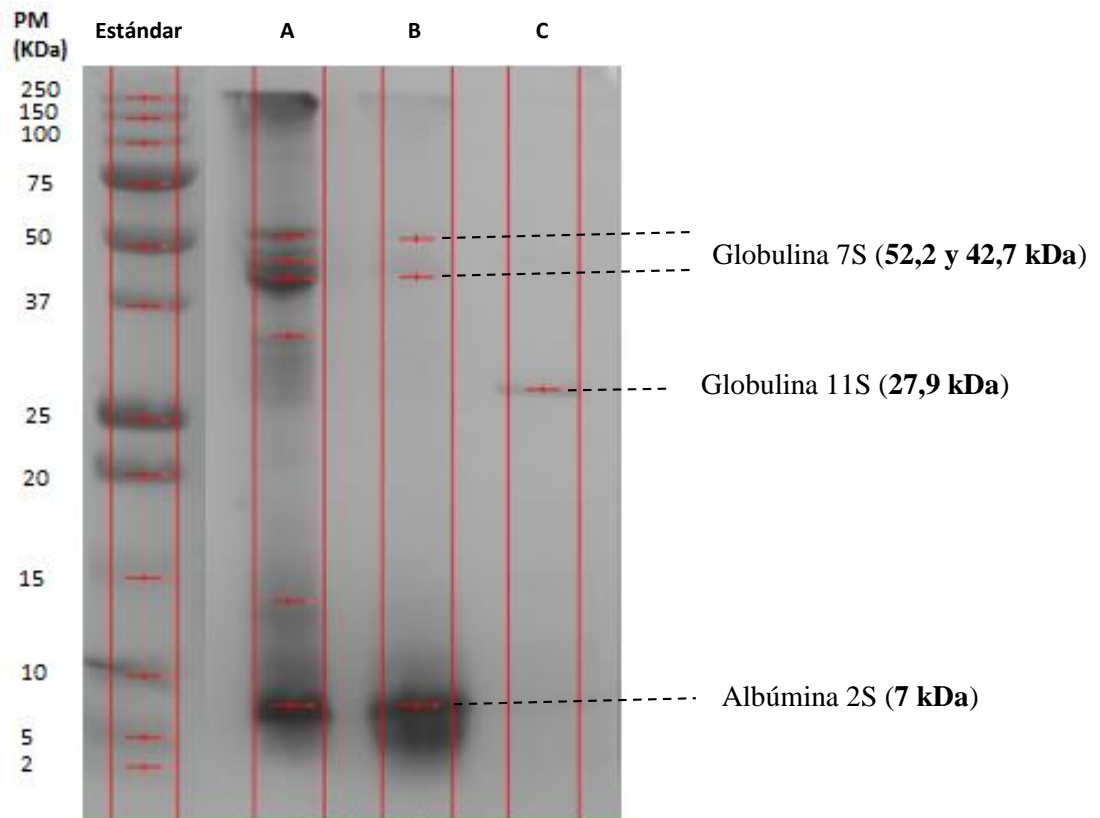


Figura 3. *Electroforesis SDS-PAGE sin 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).*

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB

Tabla 19

Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE sin 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas precocidas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado

Banda	Estándar	Concentrado proteico (KDa)	Digestión gástrica (KDa)	Digestión duodenal (KDa)
1	250	52,2	52,2	27,9
2	150	46,1	42,7	-
3	100	42,7	7	-
4	75	34,6	-	-
5	50	13,6	-	-
6	37	7	-	-
7	25	-	-	-
8	20	-	-	-
9	15	-	-	-
10	10	-	-	-
11	5	-	-	-
12	2	-	-	-

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB, 2023

Los resultados obtenidos del análisis de electroforesis de la harina precocida fueron similares en presencia y ausencia del agente reductor. Sin embargo, al comparar los resultados se logró apreciar como las bandas de electroforesis sin agente reductor poseen una baja intensidad, provocando interferencias al momento de la lectura de resultados, razón por la que existe un mayor número de bandas proteicas en la electroforesis con agente reductor. Según **Pérez Chabela et al. (2015)** el 2-mercaptoetanol es un agente reductor que permite la ruptura de los puentes disulfuro y desnaturalización de proteínas, provocando la desintegración de la estructura cuaternaria de las proteínas y como consecuencia una separación más efectiva de las proteínas en el gel, debido a que las subunidades se separan en cadenas peptídicas individuales. Lo cual se evidenció en los resultados obtenidos (Figura 2 y Tabla 18).

La Figura 4 y Tabla 20 registran los resultados de la electroforesis SDS-PAGE del concentrado proteico de harina cruda en presencia de agente reductor. La harina cruda sirvió para llevar un control del avance de digestibilidad frente a la mezcla de harinas precocidas. El perfil de proteínas del concentrado proteico reporta un mayor número de bandas en relación a las harinas precocidas, con pesos moleculares de 7; 13,6; 16,4; 18,8; 20,4; 22,6; 27,9; 30,0; 34,6; 46,1; 52,2 y 76,6 kDa, considerando alrededor de 12 tipos de proteínas. Luego de la digestión gástrica permanecen proteínas con pesos moleculares de 7 kDa (albuminas 2S), 20,4 kDa y 27,9 kDa (globulinas 11S naturaleza básica) y 30,0 kDa (globulinas 11S naturales ácida). Finalmente, el digerido duodenal posee dos bandas proteicas de 27,9 kDa y 30,0 kDa pertenecientes a globulinas 11S.

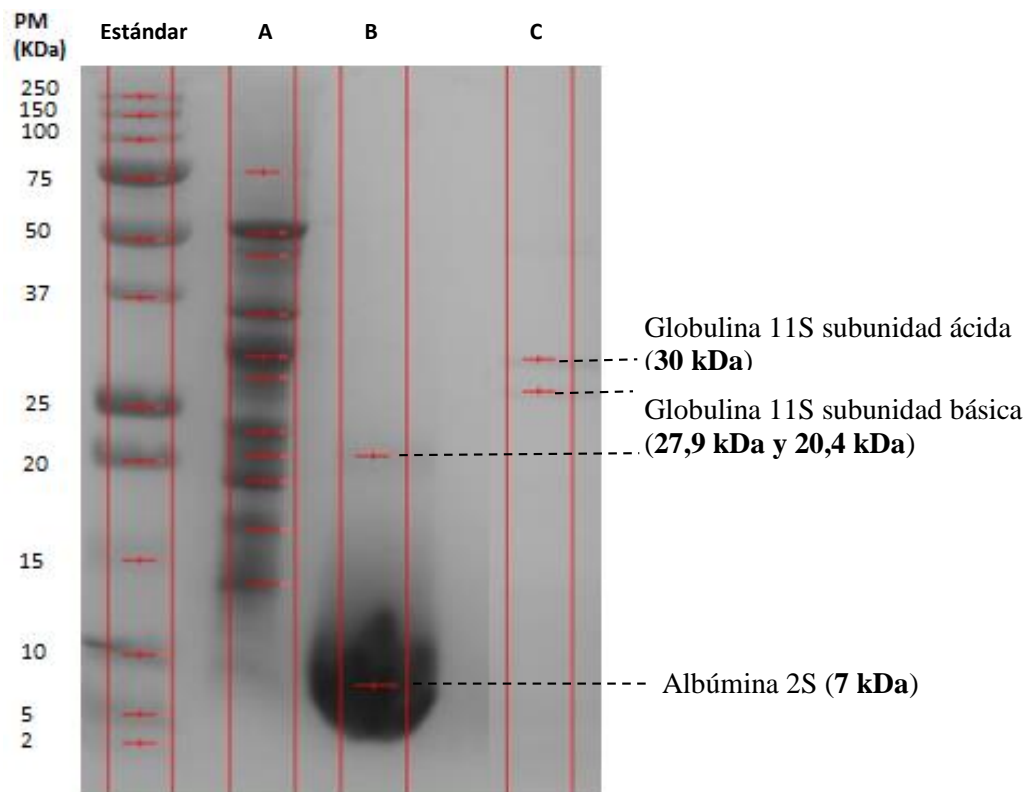


Figura 4. *Electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto (A); Digestión gástrica (B); Digestión duodenal (C).*

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB

Tabla 20

Resultados de pesos moleculares del análisis de electroforesis SDS-PAGE con 2-mercaptoetanol del concentrado proteico extraído de una mezcla de harinas crudas proporción 25% harina de quinua y 75% harina de amaranto, digestión gástrica y digestión duodenal del concentrado

Banda	Estándar	Concentrado proteico (KDa)	Digestión gástrica (KDa)	Digestión duodenal (KDa)
1	250	78,6	30,0	30,0
2	150	52,2	27,9	27,9
3	100	46,1	20,4	-
4	75	34,6	7	-
5	50	30,0	-	-
6	37	27,9	-	-
7	25	22,6	-	-
8	20	20,4	-	-
9	15	18,8	-	-
10	10	16,4	-	-
11	5	13,6	-	-
12	2	7	-	-

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB

El análisis establece que las globulinas 11S son resistentes a la acción de enzimas digestivas tanto en harinas crudas como en harinas precocidas, estas proteínas se caracterizan por su resistencia a la hidrólisis enzimática, por lo que no se descomponen con facilidad en el intestino. Existen varias razones por las que las globulinas 11S son susceptibles a la hidrólisis; al poseer una estructura proteica compacta con enlaces disulfuro y plegamiento tridimensional, impide la acción de enzimas digestivas. Por otro lado, este tipo de globulinas se caracterizan por formar complejos con otros componentes de la harina como lípidos o almidón, lo que da lugar a la formación de una barrera física impidiendo una hidrólisis completa. También, ciertas globulinas 11S poseen inhibidores de proteasas, estos compuestos tienden a bloquear o ralentizar la actividad de enzimas digestivas frente a la degradación de proteínas. No obstante, también hay que considerar las condiciones óptimas del intestino como el pH o composición enzimática, este tipo de proteínas suelen requerir una mayor

concentración de enzimas para lograr una degradación completa. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que a pesar de que las globulinas 11S resisten la hidrólisis enzimática también sufren degradación durante todo el proceso de digestión (Nardo et al., 2017.; Vilcacundo et al., 2017.; Carrera Borja & Paredes Escobar, 2023).

3.1.6. Actividad antioxidante de la proteína de harinas precocidas

El método TBARS mide la cantidad de productos de peroxidación lipídica en una muestra biológica, consiste en la reacción entre dos moléculas de TBA con una de malondialdehído (aldehído derivado de la peroxidación lipídica), la reacción tiene lugar en medios ácidos y a altas temperaturas, formando como resultado compuestos de color rosado denominados complejos tiobarbitúricos (Benavent Saneleuterio, 2016). La determinación de malondialdehído (MDA) permite cuantificar la extensión de peroxidación lipídica. Además, el método espectrofotométrico es el más empleado para la cuantificación de MDA. La velocidad de como sucede la reacción está ligada a la concentración de TBA y la coloración generada se absorbe con mayor eficacia entre 532 nm – 535 nm (Sánchez Acuña, 2020).

Se determinó la actividad antioxidante de la proteína aislada de una mezcla de harinas precocidas, el análisis se realizó en la muestra que obtuvo un mayor rendimiento proteico el cual fue de la proporción quinua: amaranto 25:75 a pH 4, la actividad antioxidante fue medida a diferentes concentraciones 100, 200, 500 y 1000 ($\mu\text{g/mL}$). Por lo cual, se empleó aceite de oliva oxidado para evaluar la capacidad que poseen los aislados proteicos de inhibir la peroxidación lipídica. Como controles se emplearon la proteína extraída de una mezcla de harina cruda en iguales condiciones a la harina precocida y sometiéndola a las mismas concentraciones de pruebas y antioxidante sintético BHT.

En la Tabla 21 y Figura 5 se evidencia como el concentrado proteico de harina precocida poseen un mayor porcentaje de actividad antioxidante frente a los concentrados proteicos de harina cruda. Además, se observa que a mayor concentración proteica también es mayor la actividad antioxidante para todos los tratamientos. Gutiérrez Tlahque et al. (2019) manifiestan que algunos antioxidantes presentes en alimentos crudos se encuentran ligados a otras moléculas, por lo que no

pueden ejercer su actividad antioxidante, la cocción tiende a liberar estos antioxidantes aumentando su capacidad antioxidante. Sin embargo, la cocción también puede disminuir la actividad antioxidante debido a la degradación de ciertos antioxidantes termolábiles como es el caso de las vitaminas C y E.

Por otro lado, al comparar el aislado proteico de harina precocida con el antioxidante sintético BHT, se observa como este último posee un mayor porcentaje de actividad antioxidante. Un alto porcentaje de actividad antioxidante de antioxidantes sintéticos se deben a varias razones, entre ellas está su estructura química, debido a que son diseñados específicamente para neutralizar radicales libres, aumentar su capacidad de donar electrones o atrapar especies reactivas de oxígeno, además de que estos antioxidantes se producen en altos porcentajes de pureza, por lo que su efectividad y estabilidad son más elevadas (Valenzuela V & Pérez M, 2016.; Carbajal Sánchez et al., 2021).

Tabla 21

Porcentaje de actividad antioxidante de concentrado proteico extraído de harina precocida, harina cruda y empleado BHT como control a diferentes concentraciones y evaluada por el método TBARS

Concentración [µg/mL]	Porcentaje de actividad antioxidante* [%]		
	Harina precocida	Harina cruda (control 1)	BHT (control 2)
100	47,08 ± 0,41	23,79 ± 0,51	65,19 ± 1,38
200	62,01 ± 0,94	49,41 ± 0,93	76,87 ± 0,56
500	68,37 ± 0,15	53,68 ± 0,26	81,37 ± 0,80
1000	70,57 ± 0,54	60,60 ± 0,66	84,38 ± 0,30

*Promedio de tres réplicas ± Desviación estándar

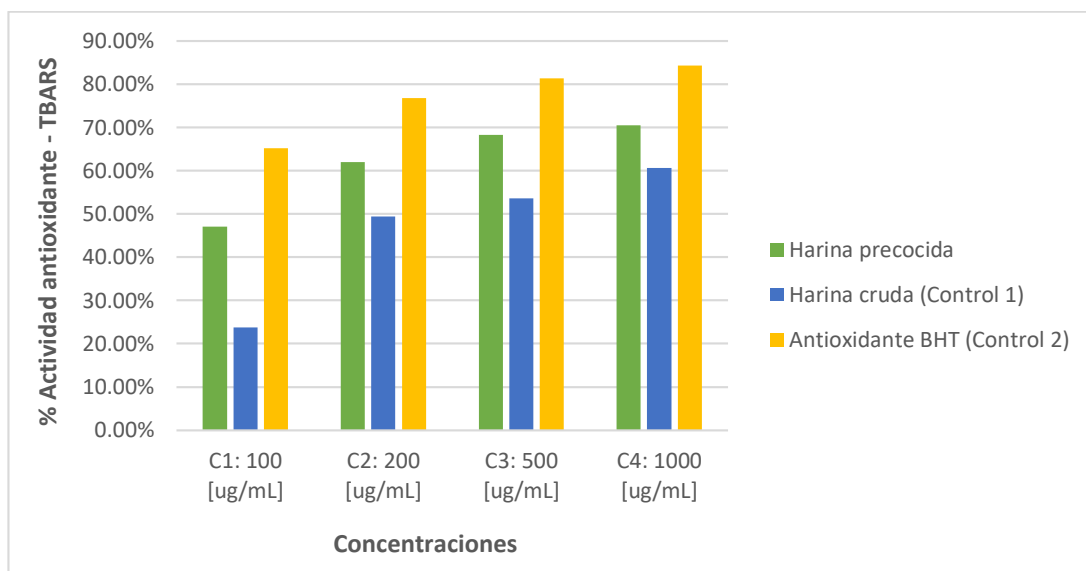


Figura 5. Actividad antioxidante del concentrado proteico de harina precocida frente a concentrado proteico de harina cruda (Control 1) y antioxidante sintético BHT (Control 2).

La escasa información de investigación acerca de la actividad antioxidante de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto, ha llevado a comparar los resultados con investigaciones de otro tipo de granos. **Delgado Vargas et al. (2011)** en su investigación con mezclas de harinas precocidas de maíz y frijol, señalan un porcentaje de actividad antioxidante de 37,9%.

Campos-Rodriguez et al. (2022) señalan que la aplicación de tratamientos térmicos sobre la quinua provocan aumentos favorables en cuanto a la cantidad de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

En la Tabla 46 correspondiente al análisis de ANOVA, se observa que a un nivel de significancia del 5% (valor- $p < 0,05$) existen diferencias significativas en cada uno de los factores (Factor A: Muestras con actividad antioxidante y Factor B: Concentraciones de las muestras), como también entre la interacción AB, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se determina que al cambiar las concentraciones de las muestras existirá una variabilidad en los resultados en cuanto al porcentaje de actividad antioxidante.

La prueba de múltiples rangos para el Factor A (muestras con actividad antioxidante) (Tabla 22) muestra como el concentrado proteico extraído de la harina precocida posee

un mayor porcentaje de actividad antioxidante frente al control de harina cruda, sin embargo, este valor es inferior al porcentaje de actividad antioxidante que posee el segundo control (Antioxidante sintético BHT). Por otro lado, la prueba de múltiples rangos para el factor B (concentraciones de las muestras) (Tabla 23) refleja como existe una mayor actividad antioxidante a una concentración de 1000 µg/mL y una menor actividad antioxidante a una concentración de 100 µg/mL, por lo que permite deducir que, entre mayor concentración empleada, también será mayor el porcentaje de actividad antioxidante.

Tabla 22

Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Actividad Antioxidante por Factor A

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
a0: Harina precocida	12	61,9997	0,20226	A
a1: Harina cruda	12	46,8669	0,20226	B
a2: Antioxidante BHT	12	76,952	0,20226	C

Fuente: Statgraphics, 2023

Tabla 23

Prueba de múltiples rangos para el Porcentaje de Actividad Antioxidante por Factor B

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b0: 100 µg/mL	9	45,3411	0,23355	F
b1: 200 µg/mL	9	62,7626	0,23355	G
b2: 500 µg/mL	9	67,804	0,23355	H
b3: 1000 µg/mL	9	71,8504	0,23355	I

Fuente: Statgraphics, 2023

3.2. Verificación de hipótesis

3.2.1. Rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos mediante precipitación isoelectrica a valores de pH de 4,0 y 5,0.

El análisis de varianza demostró la presencia de diferencias significativas, por lo que se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_a) que determina que las concentraciones o proporciones de las harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) y los pHs de precipitación si influyen significativamente sobre el rendimiento proteico, por lo que el emplear una diferente proporción o pH de precipitación provocará cambios sobre el rendimiento proteico.

3.2.2. Actividad antioxidante del concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*).

El análisis de varianza demostró la presencia de diferencias significativas, por lo que se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_a) que determina que el concentrado proteico de una mezcla de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*) evaluado a diferentes concentraciones (100, 200, 500 y 1000 $\mu\text{g/mL}$) presenta diferencias significativas frente a harinas crudas y antioxidante sintético BHT.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se elaboraron tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*), para ello como paso previo se realizó la obtención de harinas crudas y posterior elaboración de harinas precocidas, las mezclas de harinas precocidas se realizaron en relación quinua: amaranto con proporciones de 25:75, 50:50 y 75:25. Además, se realizaron tres mezclas de las harinas crudas en iguales proporciones, con la finalidad de llevar un control de resultados con los posteriores análisis de rendimiento, digestibilidad y actividad antioxidante.
- Se aislaron las proteínas presentes en tres mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*), las mezclas se realizaron en proporción 25:75, 50:50 y 75:25 correspondientes a la relación quinua: amaranto. El proceso de extracción de proteínas se realizó mediante precipitación isoelectrica, para la solubilización de la proteína se empleó un pH 8,0 y posterior precipitación del sobrenadante (proteína soluble) a valores de pH 4,0 y 5,0. Se obtuvo un mayor rendimiento proteico en la proporción 25:75 a pH de precipitación 4,0 y un bajo rendimiento en la proporción 75:25 a pH de precipitación 5,0.
- Se cuantificó por el método Dumas el contenido proteico de los concentrados obtenidos a partir de mezclas de harinas precocidas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*), la cuantificación se realizó en las tres mezclas de harinas precocidas extraídas a pH 4,0 debido a que fueron las de mayor rendimiento proteico. El mayor contenido proteico tuvo la proporción 25:75 con un valor de 55,73%, el contenido de proteína de los concentrados

obtenidos de las proporciones 50:50 y 75:25 fue de 52,26% y 50,51%, respectivamente.

- Se realizó la simulación de la digestibilidad *in vitro* en fase gástrica pH 3,0 y fase duodenal pH 7,0 de concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas en proporción 25% quinua y 75% amaranto. Se empleó electroforesis SDS-PAGE en presencia y ausencia de agente reductor para evaluar el avance de hidrólisis, tras la digestión gástrica en presencia de agente reductor se observó la presencia de bandas proteicas con pesos moleculares de 52,2 kDa (globulinas 7S); 31,5 kDa (globulinas 11S subunidad ácida); 27,9 kDa (globulinas 11S subunidad básica) y 7 kDa (albúminas); en ausencia de agente reductor las bandas fueron similares con pesos de 52,2; 42,7 y 7 kDa y para el digerido de harina cruda fueron de 30,0; 27,9; 20,4 y 7 kDa. Sin embargo, tras realizar una digestión duodenal los concentrados de harinas precocidas presentaron una banda proteica (27,9 kDa) y las harinas crudas dos bandas proteicas (27,9 y 30,0 kDa) correspondientes a globulinas 11S, las mismas que se caracterizan por su resistencia a la acción de enzimas digestivas.
- Se determinó la actividad antioxidante por el método TBARS de los concentrados proteicos de una mezcla de harina precocida, mezcla de harina cruda (Control 1) y antioxidante sintético BHT (Control 2). El porcentaje de actividad antioxidante para el concentrado proteico de harina precocida fue de 70,57%, al comparar con la actividad antioxidante del concentrado proteico de harina cruda en igual proporción a la harina precocida, se observó como las harinas precocidas poseen una mayor actividad antioxidante frente a harinas crudas (60,60%). Sin embargo, este valor no supera a la actividad antioxidante que posee el antioxidante sintético BHT valor correspondiente a 84,38%.

4.2. Recomendaciones

- Realizar un desalmidonado de la harina como paso previo a la obtención de concentrados proteicos.
- Obtener concentrados proteicos de harinas precocidas aplicando otros pHs de solubilización, debido a que investigaciones han demostrado que existe un mayor rendimiento proteico en pHs superiores a 10,0.
- Analizar la cuantificación proteica por otros métodos analíticos para afianzar los resultados obtenidos en esta investigación.
- Determinar el perfil de aminoácidos presente en las proteínas de harinas crudas y harinas precocidas de quinua y amaranto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abril-Ibarra, Z. (2021). Antioxidantes producidos por microorganismos acuáticos y terrestres con uso potencial en cosméticos. *Actualidades Biológicas*, 44(116), 1-19. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v44n116a02>
- Abugoch James, L. E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. En *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 58, pp. 1-31). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(09\)58001-1](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(09)58001-1)
- Abugoch, L. E., Romero, N., Tapia, C. A., Silva, J., & Rivera, M. (2008). Study of Some Physicochemical and Functional Properties of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd) Protein Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4745-4750. <https://doi.org/10.1021/jf703689u>
- Almeida, C., Monteiro, M., Costa-Lima, B., Alvares, T., & Conte Junior, C. (2015). In vitro digestibility of commercial whey protein supplements. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 61, 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.038>
- Aluko, R. E., & Monu, E. (2003). Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolysates. *Journal of Food Science*, 68(4), 1254-1258. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09635.x>
- Ames, H., Cáceres, E., Reque, M., & Vásquez, C. (2017). *Precipitación de proteínas en el tratamiento de efluentes de la producción industrial de salsas de soya*. 11, 9. <https://www.tecsup.edu.pe/sites/default/files/page/file/revista/Volumen-11/Art-6.pdf>
- Arango Bedoya, O., Bolaños Patiño, V., Ricaurte García, D., Caicedo, M., & Guerrero, Y. (2012). Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). *Universidad y Salud*, 14(2), 161-167. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0124-710720120002000006&lng=e&nrm=iso&tlng=es
- Arriaga, L. (2015). *APPLICATION NOTE Crude Fat Determination in Mayonnaise according to the Randall method*. 1-3.
- Ayala Niño, A., Pérez Escalante, E., Sebastian, J., Añoave Morga, J., Rodríguez Serrano, G., Jiménez Alvarado, R., Bautista Ávila, M., & González Olivares, L. (2019). Actividad antioxidante de proteína de amaranto (*Amaranthus*

- hypochondriacus) hidrolizada por Alcalasa y Flavourzyme. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 7. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/1/2.pdf>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de Los Alimentos* (cuarta). Pearson Educación. <https://fcen.uncuyo.edu.ar/upload/libro-badui200626571.pdf>
- Basantes, F., Aragón, J. P., & Albuja, M. (2022). *Cultivos Andinos de importancia agro productiva y comercial en la Zona 1 del Ecuador*. Editorial Universitaria.
- Benavent Saneleuterio, M. (2016). *Efecto del tiempo de conservación y de la temperatura en los parámetros oxidativos de la carne de potro* [Universidad Pública de Navarra]. <https://academica-e.unavarra.es/xmlui/handle/2454/22449>
- Bianco D, H. W., Capote L, T., & Garmendia G, C. (2014). Determinación de humedad en harina precocida de maíz blanco utilizando un horno de microondas doméstico. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 45(2), 50-63. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0798-04772014000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Brodkorb, A., Egger, L., Marie, A., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., DUFOUR, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., & Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Cadena, F. M. (2021). *Análisis del impacto económico del cambio climático en cultivos de quinua (Chenopodium quinua), en la provincia de Chimborazo* [Universidad Andina Simón Bolívar - Sede Ecuador]. <https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/8067/1/T3513-MCCNA-Cadena-Analisis.pdf>
- Campos-Rodriguez, J., Acosta-Coral, K., & Paucar-Menacho, L. M. (2022). Quinoa (Chenopodium quinoa): Composición nutricional y Componentes bioactivos del grano y la hoja, e impacto del tratamiento térmico y de la germinación. *Scientia Agropecuaria*, 13(3), 209-220. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.019>

- Carbajal Sánchez, J. A., Ramírez Durán, N., Gamboa Angulo, M., & Moreno Pérez, P. A. (2021). Estado de la información del consumo en México de antioxidantes sintéticos en alimentos ultra-procesados, basados en los productos de la canasta básica. *Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 31(58). <https://doi.org/10.24836/es.v31i58.1143>
- Carrera Borja, W. X., & Paredes Escobar, M. L. (2023). “*EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE UN SUPLEMENTO ALIMENTICIO DIRIGIDO A ADOLESCENTES ENTRE 12 A 18 AÑOS, A PARTIR DE HARINAS PRECOCIDAS DE PSEUDOCEREALES ANDINOS: QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.) Y AMARANTO (Amaranthus caudatus)*” [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/37203/1/08%20CC.AL.pdf>
- Carrillo, W. (2014). Digestibilidad de las proteínas alergénicas. *Química Viva*, 13(2), 109-122. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633005>
- Castaño Gonzalez, M., & Riveros Hurtado, Y. (2022). *EVALUACIÓN DE UNA EMULSIÓN ALIMENTARIA TIPO O/W ESTABILIZADA CON CONCENTRADO PROTEICO DE AMARANTO (amaranthus lividus)*. [UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS]. <https://repositorio.unillanos.edu.co/bitstream/handle/001/2827/Trabajo%20de%20grado%2C%20Evaluaci%C3%B3n%20de%20una%20emulsi%C3%B3n%20alimentaria%20tipo%20o-w%20estabilizada%20con%20concentrado%20proteico%20de%20amaranto%20%28Amaranthus%20Lividus%29..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chaparro, S., Tavera, M., Martínez, J., & Gil, J. (2014). Propiedades funcionales de la harina y de los aislados proteicos de la semilla de guanábana (*Annona muricata*). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v17.n1.2014.950>
- Chávez Pérez, J. F. (2020). El enriquecimiento de la harina de maíz precocida y de la harina de trigo en Venezuela. Una gestión con éxito. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 33(1), 67-75.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0798-07522020000100067&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Damodaran, S. (2010). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En *Química de los Alimentos* (Tercera, pp. 440-444). Acribia.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3174850>
- Delgado Vargas, F., Fuentes Gutiérrez, C. I., Basilio Heredia, J., Muy Rangel, M. D., Medina Godoy, S. M., Gutiérrez Dorado, R., Reyes Moreno, C., Valdez Ortiz, A., & López Valenzuela, J. A. (2011). *POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE HARINAS PRECOCIDAS DE MAÍZ Y FRIJOL OBTENIDAS A PARTIR DE EXTRUSIÓN Y FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO*.
- FAO. (2014). *Tendencias y perspectivas del comercio internacional de quinua*. FAO.
<https://www.fao.org/publications/card/es/c/90ce9b3a-7f09-5d64-b4ef-6990d4958dfb/>
- FAO. (2019). Procedimiento operativo estándar para la determinación de carbono total del suelo—Método de combustión seca Dumas. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*.
<https://www.fao.org/3/ca7781es/CA7781ES.pdf>
- Fierro Altamirano, S. G., Zurita Altamirano, J. C., & Guerrero Velástegui, C. A. (2021). *ESTRATEGIAS COMERCIALES PARA LA EXPORTACIÓN DEL AMARANTO ECUATORIANO A PARÍS (UNIÓN EUROPEA)*. 5(17).
<https://doi.org/10.23857/fipcaec.v5i5.187>
- Gajula, H., Liu, S., Alavi, S., Herald, T., Madl, R., Bean, S., & Tilley, M. (2009). Pre-Cooked Fiber-Enriched Wheat Flour Obtained by Extrusion: Rheological and Functional Properties. *International Journal of Food Properties*, 12, 20.
<https://doi.org/10.1080/10942910802227017>
- García Luna, P. P., & López Gallardo, G. (2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 05-13.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0212-16112007000500002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- González Pérez, M. I. (2020). *Métodos de análisis para la determinación de proteínas en cereales: Amaranto y cebada*. <https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/27174>
- Gutiérrez Paz, C., Lares, M., Sandoval, J., & Saldaña Hernández, M. I. (2022). Extracción de aislado proteico de quinua (*chenopodium quinua*: Variedad

- blanca junín) como alternativa para el uso en suplementos altos en proteína. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 47(7), 279-283. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8532794>
- Gutiérrez Tlahque, J., Santiago Sáenz, Y. O., Hernández Fuentes, A. D., Pinedo Espinoza, J. M., López Buenabad, G., & López Palestina, C. U. (2019). Influencia de los métodos de cocción sobre la actividad antioxidante y compuestos bioactivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Nova scientia*, 11(22), 53-68. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i22.1685>
- Guzmán-Chozas, M., Vicario, I. M., & Guillén-Sans, R. (1997). Spectrophotometric Profiles of Off-Flavor Aldehydes by Using Their Reactions with 2-Thiobarbituric Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2452-2457. <https://doi.org/10.1021/jf960965v>
- Hernández Espinosa, D. R., Barrera Morín, V., Briz Tena, O., González Herrera, E. A., Laguna Maldonado, K. D., Jardínez Díaz, A. S., Sánchez Olivares, M., Matuz Mares, D., Hernández Espinosa, D. R., Barrera Morín, V., Briz Tena, O., González Herrera, E. A., Laguna Maldonado, K. D., Jardínez Díaz, A. S., Sánchez Olivares, M., & Matuz Mares, D. (2019). El papel de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en algunas enfermedades neurodegenerativas. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 62(3), 6-19. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2019.62.3.03>
- IICA. (2015). *El mercado y la producción de quinua en el Perú*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2652/BVE17038730e.pdf;jsessionid=7FDEF05DD92DF13B0E6CFE884A10B3B6?sequence=1>
- Janssen, F., Pauly, A., Rombouts, I., Jansens, K. J. A., Deleu, L. J., & Delcour, J. A. (2016). Proteins of Amaranth (*Amaranthus*spp.), Buckwheat (*Fagopyrum*spp.), and Quinoa (*Chenopodium*spp.): A Food Science and Technology Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 39. https://www.academia.edu/98282679/Proteins_of_Amaranth_Amaranthusspp_Buckwheat_Fagopyrumssp_and_Quinoa_Chenopodiumssp_A_Food_Science_and_Technology_Perspective

- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J., & Chen, L. (2014). Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 461-469. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.035>
- Jiménez Sanchez, E. V. (2017). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, FÍSICA Y FENOLOGÍA DE CUATRO VARIEDADES DE AMARANTO (Amaranthus sp.) PARA LAS CONDICIONES METEOROLÓGICAS DEL CANTÓN CEVALLOS [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]*. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25899/1/Tesis-162%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20CD%20490.pdf>
- Jurado Cortés, N. B., Quintero, L. A., León Virgüez, C., Gutiérrez Rodríguez, M. L., & Quintana Fuentes, L. F. (2021). El amaranto propiedades y usos en la industria panadera. *Documentos de Trabajo ECBTI*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.22490/ECBTI.5494>
- Jurado Escobar, E. O. (2019). *“ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DEL AMARANTO (Amaranthus sp) EN LA PROVINCIA DE IMBABURA” [UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE]*. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/9888/2/03%20AGN%20064%20TRABAJO%20GRADO.pdf>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Linares Pípon, C., & Zúñiga Garay, E. (2021). ANTIOXIDANTES ASOCIADOS A FUENTES NATURALES Y SUS PROPIEDADES BIOLÓGICAS. UNA REVISIÓN EN DEUDA DESDE ELSEVIER. *Revista Chilena de Educación Científica*, 22(2), Article 2. <http://revistas.umce.cl/index.php/RChEC/article/view/2276>
- López Yagual, K. N. (2019). *Evaluación de la digestibilidad gastrointestinal in vitro, actividades antiinflamatoria y antioxidante en concentrados e hidrolizados proteicos extraídos de harina de gandul (Cajanus cajan)*. [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29421/1/BQ%20183.pdf>

- Luis, G. M., Hernández Hernández, B. R., Peña Caballero, V., Torres López, N. G., Espinoza Martínez, V. A., & Ramirez Pacheco, L. (2018). Usos actuales y potenciales del Amaranto (*Amaranthus* spp.). *JOURNAL OF NEGATIVE AND NO POSITIVE RESULTS*, 6, 423-436. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.2410>
- Malik, A., & Singh, A. (2021). Pseudocereals Proteins- A comprehensive review on its isolation, composition and quality evaluation techniques. *Food Chemistry Advances*, 1.
- Martínez, A. P., Martínez, S. T., & Ardila, H. D. (2017). Condiciones para el análisis electrofórico de proteínas apoplásticas de tallos y raíces de clavel (*Dianthus caryophyllus* L) para estudios proteómicos. *Revista Colombiana de Química*, 46(2), 5-16. <https://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n2.62958>
- Martínez, E. N., & Añón, M. C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2523-2530. <https://doi.org/10.1021/jf960169p>
- Martínez, J. J., Medina, O. J., & Zambrano, R. (2019). Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis* f). *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(1), 70-76. <https://www.redalyc.org/pdf/903/90322640010.pdf>
- Mejía-López, A., Rodas, S., & Baño, D. (2017). La desnaturalización de las proteínas de la leche y su influencia en el rendimiento del queso fresco. *Enfoque UTE*, 8(2), 121-130. <https://www.redalyc.org/journal/5722/572261627010/html/>
- Mercado R., J. L., Elías P., C. C., & Pascual C., G. J. (2015). *Obtención de un aislado proteico de Torta de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) y evaluación de sus propiedades Tecno-Funcionales*. 76(1), 160-167. <https://doi.org/10.21704/ac.v76i1.777>
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., ... Brodtkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>

- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>
- Moltalvo Navarro, C. A., & Lugo Flores, M. A. (2016). ELECTROFORÉISIS: FUNDAMENTOS, AVANCES Y APLICACIONES. *EPISTEMUS*, 7.
- Moron, C. (1997). MÉTODOS DE ANALISIS PARA LA DETERMINACION DE NITROGENO Y CONSTITUYENTES NITROGENADOS EN ALIMENTOS. En *PRODUCCIÓN Y MANEJO DE DATOS DE COMPOSICION QUÍMICA DE ALIMENTOS EN NUTRICIÓN* (p. 356). FAO. Direccion de Alimentacion y Nutricion. <https://www.fao.org/3/ah833s/Ah833s17.htm>
- Moscoso Gama, J. M., Garzón Venegas, J. D., Mueses Tarazona, P. S., Mayorga Borja, D., & Rodríguez Pedraza, M. (2020). *Cuantificación de proteínas*. El Cid Editor. <https://elibro.net/es/ereader/uta/131184>
- Nardo, A. E., Parisi, G. D., & Añon, C. M. (2017). *PÉPTIDOS BIOACTIVOS DE GLOBULINAS DE AMARANTO. UNA APROXIMACIÓN COMPUTACIONAL Y EXPERIMENTAL*. [UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/60636/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- NTE INEN 616. (2006). *HARINA DE TRIGO. REQUISITOS*. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN.
- NTE INEN 1737. (2016). *HARINA DE MAÍZ PRECOCINADA SIN GERMEN. REQUISITOS*.
- Núñez Villacís, G. E. (2021). *Desarrollo de harinas precocidas a partir de pseudocereales andinos de alta digestibilidad proteica* [BachelorThesis, UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/32122>
- Ortega Rodrigo, M. (2019). *“EFECTO DEL PH DE SOLUBILIZACIÓN EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA AISLADA DE SEMILLA*

DE NABO SILVESTRE (*Brassica rapa* L.)” [UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA].
<https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a2efd393-9238-4d04-947c-fef057caa9c7/content>

Pacheco Alfaro, A. (2016). *ELABORACIÓN DE PANES SIN GLUTEN UTILIZANDO HARINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* willd.) Y ALMIDÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*)*. [UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA].

<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2605/Q02-P323-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Paredes Salido, F., & Roca Fernández, J. J. (2002). Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm*, 21(7), 96-100.
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-influencia-radicales-libres-el-envejecimiento-13034834>

Pérez Chabela, M. de L., Soriano Santos, J., Ponce Alquicira, E., & Díaz Tenorio, L. M. (2015). Electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS como herramienta en el estudio de las proteínas miofibrilares. Una revisión. *Nacameh*, 9(2), 77-96.

Pérez Lite, A. (2021). *VALIDACIÓN DEL MÉTODO CUANTITATIVO DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN UN ENTORNO ACREDITABLE POR ENAC*. [Universidad Zaragoza].

<https://zaguan.unizar.es/record/100962/files/TAZ-TFG-2021-103.pdf>

Quelal, M., Nazate, K., Villacrés, E., & Cuarán, J. (2019). Obtención y caracterización de un hidrolizado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). *Enfoque UTE*, 10(2), 79-89.

<https://www.redalyc.org/journal/5722/572262062007/html/>

Revilla Flores, E. M. (2021). ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO, IMPORTANCIA E IMPLICACIÓN PATOLÓGICA. *Revista Científica Ciencia Médica*, 24(2), 125-132. <https://doi.org/10.51581/rccm.v24i2.401>

Roa-Acosta, D., González-Callejas, C., & Calderón-Yonda, Y. (2017). SEGUIMIENTO DE LA MOLIENDA ABRASIVA DEL GRANO DE AMARANTO PARA LA OBTENCIÓN DE DOS FRACCIONES CON POTENCIAL INDUSTRIAL. *Bioteología en el Sector Agropecuario y*

Agroindustrial, 15(SPE), 59-66.

[https://doi.org/10.18684/BSAA\(EdiciónEspecial\)59-66](https://doi.org/10.18684/BSAA(EdiciónEspecial)59-66)

Rodríguez Almazán, L., González, F., Mora Escobedo, R., & Robles Ramírez, M. (2016). INFLUENCIA DEL MÉTODO DESENGRASADO EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ESTRUCTURALES DE AISLADOS PROTEICOS DE CACAHUATE. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 90-95.

Saint, T., & Goupy, J. (2004). Optimization of a nitrogen analyser based on the Dumas method. *Analytica Chimica Acta*, 515(1), 191-198.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.090>

Sánchez Acuña, E. A. (2020). *Efecto del congelamiento sobre la peroxidación lipídica en el músculo de 2 especies de pescados almacenados en una planta pesquera* [UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA].
https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8566/Efecto_SanchezAcuna_Emma.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Segura Campos, M., Chel Guerrero, L., & Betancur Ancona, D. (2013). *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias*. OmniaScience.

Serra Bisbal, J. J., Melero Lloret, J., Martínez Lozado, G., & Fagoaga García, C. (2020). Especies vegetales como antioxidantes de alimentos. *Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir*, 12, 71-90.
https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.577

Silva Astudillo, B. E. (2021). *ANÁLISIS DEL POTENCIAL DE EXPORTACIÓN DE LA QUINUA ORGÁNICA ECUATORIANA AL MERCADO INTERNACIONAL* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR].

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/19013/AN%20C3%81LISIS%20DEL%20POTENCIAL%20DE%20EXPORTACI%20C3%93N%20DE%20LA%20QUINUA%20ORG%20C3%81NICA%20ECUATORIANA%20AL%20MERCADO%20INTERNACIONAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=En%20Ecuador%20las%20provincias%20dedicadas,Agricultura%20y%20Ganader%C3%ADa%20%20s.f.>

Silva Sánchez, C. (2007). *Caracterización fisicoquímica y nutracéutica de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) cultivado en San Luis Potosí* [INSTITUTO

POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA,
A.C.].

<https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/767/3/TDIPICYT5C32007.pdf>

Tacon, A. G. J. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: Manual de capacitación*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Toapanta Paredes, M. A. (2016). *Caracterización de aislados proteicos de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y su digestibilidad gástrica y duodenal (in vitro)* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO].
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22858/1/AL597.pdf>

Toro, Y. M., Guerra, M., Espinoza, C., & Newman, A. (2011). Cambios en la composición proximal de harina de maíz precocida, arroz, pastas y cereales infantiles al prepararlos en el hogar para su consumo. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 24(1), 027-033.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0798-07522011000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Trino, R. D., Grados Torrez, R. E., Gutierrez Duran, M. D. P., Mamani Mayta, D. D., Perez Gonzales, J., Magariños Loredó, W., Arías Miranda, J. L., & Gonzales Dávalos, E. (2017). Evaluación del aporte nutricional del amaranto (*amaranthus caudatus linnaeus*), quinua (*chenopodium quinoa willd*) y tarwi (*lupinus mutabilis sweet*) en el desayuno. *Revista CON-CIENCIA*, 5(2), 15-28.
http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2310-02652017000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Valenzuela V, C., & Pérez M, P. (2016). ACTUALIZACIÓN EN EL USO DE ANTIOXIDANTES NATURALES DERIVADOS DE FRUTAS Y VERDURAS PARA PROLONGAR LA VIDA ÚTIL DE LA CARNE Y PRODUCTOS CÁRNEOS. *Revista chilena de nutrición*, 43(2), 12-12.
<https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012>



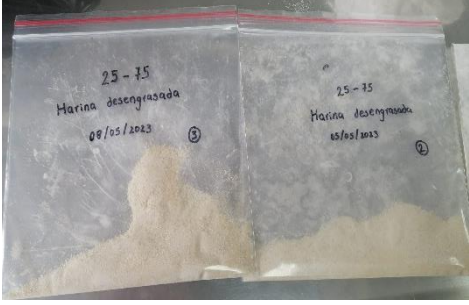
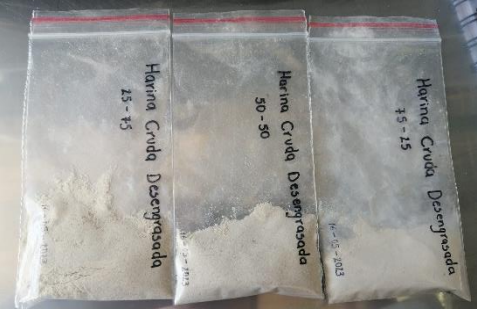
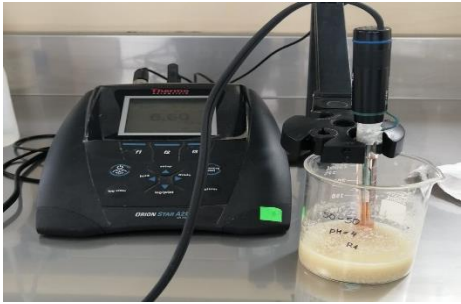
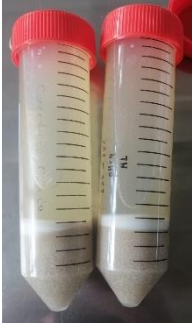

Vargas Zambrano, P., Arteaga Solorzano, R., & Cruz Viera, L. (2019). ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO SOBRE EL POTENCIAL NUTRICIONAL DE LA QUINUA (*CHENOPODIUM QUINOA*) COMO ALIMENTO FUNCIONAL. *Centro Azúcar*, 46(4), 89-100.

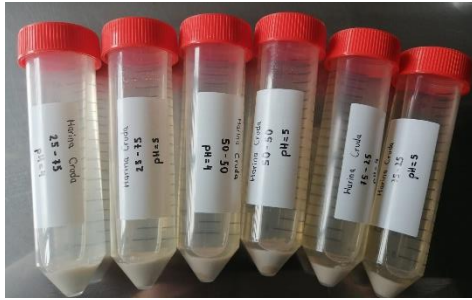
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2223-48612019000400089&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Vázquez Luna, A., Díaz Vásquez, A. E., Lezama Parada, L. M., & Pimentel Cortés, V. (2020). *Obtención y caracterización de hidrolizados proteicos de quinoa y amaranto por digestión in vitro* (pp. 48-58). ECORFAN. <https://doi.org/10.35429/H.2020.8.48.58>
- Vera, J., Astete, F. A., & Tacora, R. L. (2014). *PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN GRANOS TRES CULTIVARES DE QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.) SOMETIDOS A TRES TIPOS DE PROCESAMIENTO*. 16(1), 13-20.
- Vilcacundo, R., Carrillo Terán, W., & Hernández Ledesma, B. (2017). *Liberación de péptidos multifuncionales durante la digestión gastrointestinal simulada de proteínas de quinoa (Chenopodium quinoa Willd) y amaranto (Amaranthus Caudatus)* [Universidad Autónoma de Madrid]. <https://digital.csic.es/handle/10261/196093>

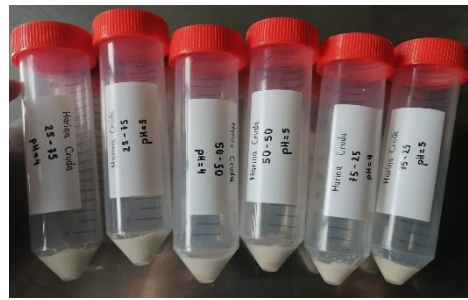
5. ANEXOS

ANEXO A. Fotografías del proceso experimental del estudio realizado

 <p>25%-75% 75%-25%</p> <p>50%-50%</p> <p>Mezclas de harinas precocidas</p>	 <p>Análisis del contenido de humedad de harinas.</p>
 <p>Desengrasado de harinas.</p>	 <p>25-75 Harina desengrasada 08/05/2023</p> <p>25-75 Harina desengrasada 08/05/2023</p> <p>Harinas precocidas desengrasadas.</p>
 <p>Harina Cruda Desengrasada 75-25</p> <p>Harina Cruda Desengrasada 50-50</p> <p>Harina Cruda Desengrasada 25-75</p> <p>Harinas crudas desengrasadas.</p>	 <p>Ajuste a pH de solubilización de proteínas</p>
 <p>Muestras solubilizadas a pH 8 y centrifugadas.</p>	 <p>Harina Cruda 75-25 pH=8</p> <p>Harina Cruda 25-75 pH=5</p> <p>Harina Cruda 50-50 pH=4</p> <p>Harina Cruda 50-50 pH=5</p> <p>Harina Cruda 75-25 pH=4</p> <p>Harina Cruda 75-25 pH=5</p> <p>Muestras tras ser almacenadas a 4 °C por 24 horas.</p>



Muestras precipitadas centrifugadas (pHs 4.0 y 5.0).



Recolección del precipitado



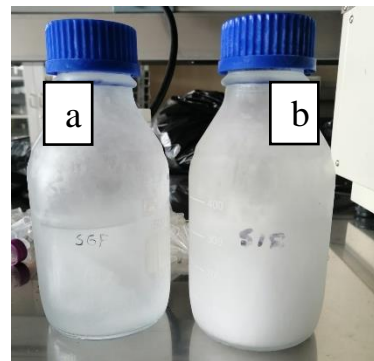
Liofilizado del concentrado proteico.



Pesaje de concentrado proteico para cuantificación proteica.



Ingreso de cápsulas en el equipo Dumas.



Preparación de soluciones de Fluido Gástrico Simulado (a) y Fluido Intestinal Simulado (b).



Preparación de pepsina, pancreatina y bilis.



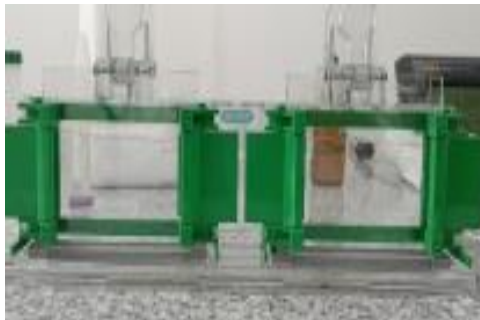
Pesaje de concentrado proteico para la simulación de digestibilidad *in vitro*.



Simulación de digestibilidad gastrointestinal *in vitro*.



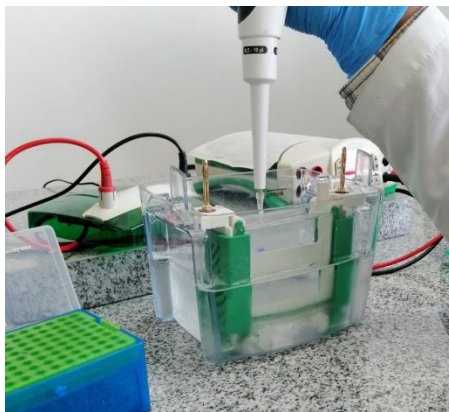
Preparación de materiales y reactivos para electroforesis.



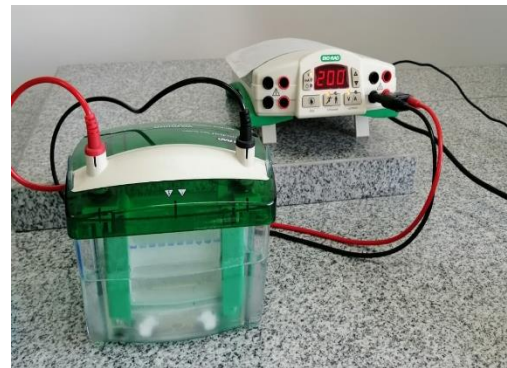
Preparación de geles para electroforesis.



Llenado de buffer running en la cámara de electroforesis.



Colocación de muestras en el gel de electroforesis.



Corrida de muestras a 200V.



Migración de muestras proteicas sobre el gel.



Teñido del gel.

ANEXO B. Resultados obtenidos sobre el contenido de humedad y grasa de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto.

Tabla 24

Porcentaje de humedad en mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Porcentaje de humedad (%)	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
25:75	1	9,4810	9,4820	0,0105	0,0011
	2	9,4930			
	3	9,4720			
50:50	1	8,1670	8,1667	0,0385	0,0047
	2	8,1280			
	3	8,2050			
75:25	1	4,2540	4,3177	0,0552	0,0128
	2	4,3510			
	3	4,3480			

Tabla 25

Porcentaje de humedad en mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Porcentaje de humedad (%)	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
25:75	1	9,9040	9,9063	0,0845	0,0085
	2	9,8230			
	3	9,9920			
50:50	1	8,9310	8,9543	0,0796	0,0089
	2	8,8890			
	3	9,0430			
75:25	1	7,3250	7,3003	0,0376	0,0052
	2	7,3190			
	3	7,2570			

Tabla 26

Datos obtenidos para el cálculo del contenido de grasa de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Peso de muestra (g)	Peso vaso + perlas de ebullición (g)	Peso vaso + perlas de ebullición + grasa extraída	Peso de la grasa extraída
25:75	1	2,5053	74,6462	74,7071	0,0609
	2	2,5028	76,4654	76,5271	0,0617
	3	2,5057	74,7423	74,8041	0,0618
50:50	1	2,5087	76,4337	76,5398	0,1061
	2	2,5076	74,7162	74,8198	0,1036
	3	2,5041	75,8664	75,9718	0,1054
75:25	1	2,5011	76,4415	76,6226	0,1811
	2	2,5005	71,7427	71,9256	0,1829
	3	2,5009	75,8659	76,0501	0,1842

Tabla 27

Porcentaje de grasa en mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Porcentaje de grasa (%)	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
25:75	1	2,4308	2,4542	0,0202	0,0082
	2	2,4652			
	3	2,4664			
50:50	1	4,2293	4,1899	0,0517	0,0123
	2	4,1314			
	3	4,2091			
75:25	1	7,2408	7,3069	0,0626	0,0086
	2	7,3145			
	3	7,3653			

Tabla 28

Datos obtenidos para el cálculo del contenido de grasa de mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Peso de muestra (g)	Peso vaso + perlas de ebullición (g)	Peso vaso + perlas de ebullición + grasa extraída	Peso de la grasa extraída
25:75	1	2,5061	74,7831	74,8491	0,0660
	2	2,5037	74,7093	74,7771	0,0678
	3	2,5047	74,7407	74,8081	0,0674
50:50	1	2,5006	75,8568	75,9803	0,1235
	2	2,5057	76,4300	76,5542	0,1242
	3	2,5022	75,9664	76,0891	0,1227
75:25	1	2,5069	71,5712	71,7573	0,1861
	2	2,5015	75,8676	76,0551	0,1875
	3	2,5036	74,4416	74,6277	0,1861

Tabla 29

Porcentaje de grasa en mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica	Porcentaje de grasa (%)	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
25:75	1	2,6336	2,6775	0,0390	0,0146
	2	2,7080			
	3	2,6909			
50:50	1	4,9388	4,9331	0,0270	0,0055
	2	4,9567			
	3	4,9037			
75:25	1	7,4235	7,4508	0,0390	0,0052
	2	7,4955			
	3	7,4333			

ANEXO C. Datos obtenidos y rendimientos proteicos de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto.

Tabla 30

Datos obtenidos para la precipitación isoeléctrica de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	pH de precipitación	W inicial harina precocida (g)		
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
25:75	4	5,0032	5,0006	5,0012
	5	5,0017	5,0029	5,0013
50:50	4	5,0026	5,0030	5,0024
	5	5,0026	5,0018	5,0032
75:25	4	5,0010	5,0008	5,0008
	5	5,0007	5,0001	5,0009

Tabla 31

Datos obtenidos para la precipitación isoeléctrica de mezclas de harinas crudas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	pH de precipitación	W inicial harina cruda (g)
25:75	4	5,0050
	5	5,0026
50:50	4	5,0005
	5	5,0028
75:25	4	5,0065
	5	5,0055

Tabla 32

Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas y harinas crudas de quinua y amaranto

Proporción quinua: amaranto (%)	pH de precipitación	Réplica	W₀ Harina (g)	W_f Proteína aislada (g)	% Rendimiento por cada 5 g de muestra
Harina precocida					
25:75	4	1	5,0032	0,3715	7,4252
		2	5,0006	0,3701	7,4011
		3	5,0012	0,3697	7,3922
	5	1	5,0017	0,3022	6,0419
		2	5,0029	0,3014	6,0245
		3	5,0013	0,3026	6,0504
50:50	4	1	5,0026	0,2886	5,7690
		2	5,0030	0,2854	5,7046
		3	5,0024	0,2856	5,7093
	5	1	5,0026	0,2265	4,5276
		2	5,0018	0,2221	4,4404
		3	5,0032	0,2301	4,5991
75:25	4	1	5,0010	0,1768	3,5353
		2	5,0008	0,1721	3,4414
		3	5,0008	0,1697	3,3935
	5	1	5,0007	0,1179	2,3577
		2	5,0001	0,1172	2,3440
		3	5,0009	0,1126	2,2516
Harina cruda (Control)					
25:75	4	1	5,0050	0,3022	6,0380
	5	1	5,0026	0,2524	5,0454
50:50	4	1	5,0005	0,2170	4,3396
	5	1	5,0028	0,2156	4,3096
75:25	4	1	5,0065	0,1171	2,3390
	5	1	5,0055	0,1108	2,2136

Tabla 33

Porcentaje de rendimiento promedio de los concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto

		% de Rendimiento				
	Muestra Proporción quinua: amaranto (%)	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio % Rendimiento	Desviación Estándar
pH 4	25:75	7,4252	7,4011	7,3922	7,4062	0,02
	50:50	5,7690	5,7046	5,7093	5,7276	0,04
	75:25	3,5353	3,4414	3,3935	3,4567	0,07
pH 5	25:75	6,0419	6,0245	6,0505	6,0390	0,01
	50:50	4,5276	4,4404	4,5991	4,5224	0,08
	75:25	2,3577	2,3440	2,2516	2,3177	0,06

Tabla 34

Resumen estadístico del porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto por cada 5 g de muestra

pH de precipitación	Muestra Proporción quinua: amaranto (%)	Promedio % Rendimiento	Desviación Estándar	Coefficiente de variación (%)	% Rendimiento Control (Harina cruda)
pH 4	25:75	7,4062	0,02	0,0023	6,0380
	50:50	5,7276	0,04	0,0063	4,3396
	75:25	3,4567	0,07	0,0209	2,3390
pH 5	25:75	6,0390	0,01	0,0022	5,0454
	50:50	4,5224	0,08	0,0176	4,3096
	75:25	2,3177	0,06	0,0249	2,2136

Tabla 35

Porcentaje de rendimiento de los concentrados proteicos obtenidos de mezclas de harinas precocidas a diferentes valores de proporciones y pHs de precipitación

pH de precipitación	Muestra Proporción quinua: amaranto (%)	% Rendimiento por cada 5 g de muestra	% Rendimiento Control (Mezcla harina cruda)
pH 4	25:75	7,4062 ± 0,02	6,0380
	50:50	5,7276 ± 0,04	4,3396
	75:25	3,4567 ± 0,07	2,3390
pH 5	25:75	6,0390 ± 0,01	5,0454
	50:50	4,5224 ± 0,08	4,3096
	75:25	2,3177 ± 0,06	2,2136

Tabla 36.

ANOVA para el Porcentaje de Rendimiento Proteico de harinas precocidas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Factor A*	44,5388	2	22,2694	8046,06	0,0000
B: Factor B*	6,88737	1	6,88737	2488,45	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,0413543	2	0,0206771	7,47	0,0078
RESIDUOS	0,0332129	12	0,00276774		
TOTAL (CORREGIDO)	51,5007	17			

**Factor A corresponde a las mezclas de harinas proporción quinua: amaranto y Factor B corresponde a los pHs de precipitación.*

Fuente: Statgraphics, 2023

ANEXO D. Datos obtenidos para la cuantificación proteica de mezclas de harinas precocidas

Tabla 37

Peso de muestras de concentrados proteicos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones

Muestra Proporción quinua: amaranto	Réplica	Peso de muestra [mg]
25:75	1	50,78
	2	50,39
	3	50,65
50:50	1	50,77
	2	50,98
	3	50,72
75:25	1	50,58
	2	50,32
	3	50,46

Cuantificación proteica del mejor tratamiento

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Lagunas II, Km 1 10, vía a San Germán, Cantón Guaymas, Provincia Bolívar, Ecuador</small>	Código	FPG12-01
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 1 de 1

INFORME N° 187-2023

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA						
Solicitante	Adriana Miriza Paredes Pérez					
Muestra	Concentrado proteico liofilizado de harina precocida de la mezcla de 25% quinua y 75% amaranto					
Código asignado UEB	INV-354					
Estado de la muestra	Liofilizado					
Envase de recepción	Tubo falcón					
Análisis requerido(s)	Porcentaje de Proteína total					
Fecha de recepción	27-06/2023					
Fecha de análisis	27-06/2023					
Fecha de informe	28-06-2023					
Técnico (s) asignado	MIPV					
RESULTADOS OBTENIDOS						
Código de laboratorio	Muestra	Parámetros	Unidad	Método	Resultado	Promedio
INV- 354	Concentrado proteico liofilizado de harina precocida de la mezcla de 25% quinua y 75% amaranto. R1	Porcentaje de proteína total	%	Dumas	55,81	55,73
	Concentrado proteico liofilizado de harina precocida de la mezcla de 25% quinua y 75% amaranto. R2				55,63	
	Concentrado proteico liofilizado de harina precocida de la mezcla de 25% quinua y 75% amaranto. R3				55,73	

Las muestras son realizadas con tres réplicas



FABIAN BAYAS MOREJÓN
DIRECTOR DIVIUEB

Dr. Fabian Bayas Morejón
Director DIVIUEB

Tabla 38

Resultados obtenidos del porcentaje de proteína de concentrados proteicos extraídos de mezclas de harinas precocidas de quinua y amaranto a diferentes proporciones

Muestra Proporción quinua: amaranto	Réplica	Proteína [%]	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación
25:75	1	55,81	55,73	0,09	0,0016
	2	55,63			
	3	55,75			
50:50	1	52,26	52,26	0,08	0,0015
	2	52,18			
	3	52,34			
75:25	1	50,51	50,51	0,15	0,0029
	2	50,34			
	3	50,22			

ANEXO E. Digestibilidad gastrointestinal in vitro

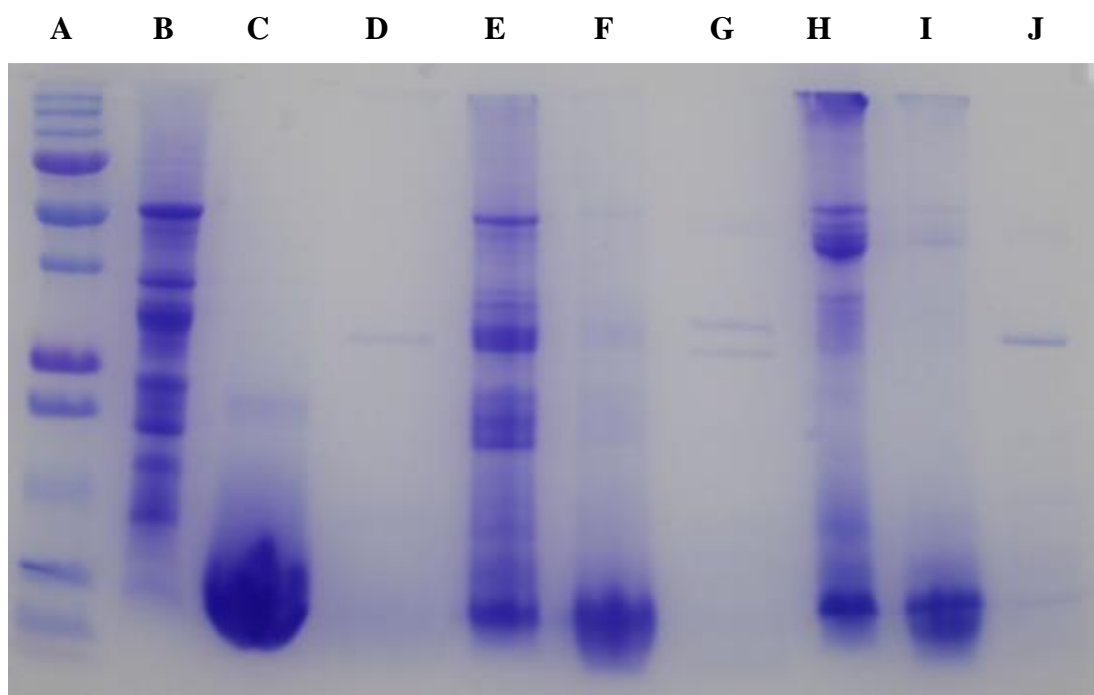


Figura 30. Resultados de electroforesis: Estándar de proteínas (A), Concentrado proteico harina cruda (B), Digerido gástrico harina cruda (C), Digerido duodenal harina cruda (D), Concentrado proteico harina precocida con 2-mercaptoetanol (E), Digerido gástrico harina precocida con 2-mercaptoetanol (F), Digerido duodenal harina precocida con 2-mercaptoetanol (G), Concentrado proteico harina precocida sin 2-mercaptoetanol (H), Digerido gástrico harina precocida sin 2-mercaptoetanol (I), Digerido duodenal harina precocida sin 2-mercaptoetanol (J).

Fuente: Laboratorio de Investigación y Vinculación Universidad Estatal de Bolívar-UEB.

ANEXO F. Datos obtenidos de la Actividad Antioxidante

Tabla 39

Datos de absorbancia a 532 nm de aceite de oliva oxidado y aceite de oliva no oxidado

	Aceite oxidado	Aceite no oxidado
R1	1,270	0,233
R2	1,380	0,233
R3	1,095	0,231
Promedio	1,248	0,232

Tabla 40*Valores de absorbancia a 532 nm de harinas precocidas a diferentes concentraciones*

Concentración [µg/mL]	Absorbancia [532 nm]		
	R1	R2	R3
100	0,769	0,767	0,775
200	0,609	0,618	0,628
500	0,554	0,555	0,552
1000	0,526	0,537	0,531

Tabla 41*Porcentaje de actividad antioxidante de harinas precocidas a diferentes concentraciones*

Concentración [µg/mL]	% Actividad antioxidante			Promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación [%]
	R1	R2	R3			
100	47,178	47,375	46,588	47,047	0,410	0,009
200	62,927	62,041	61,056	62,008	0,935	0,015
500	68,340	68,241	68,537	68,373	0,150	0,002
1000	71,096	70,013	70,604	70,571	0,542	0,008

Tabla 42*Valores de absorbancia a 532 nm de harina cruda a diferentes concentraciones*

Concentración [µg/mL]	Absorbancia [532 nm]		
	R1	R2	R3
100	1,001	1,008	1,011
200	0,739	0,757	0,743
500	0,706	0,702	0,701
1000	0,625	0,637	0,636

Tabla 43*Porcentaje de actividad antioxidante de harina cruda a diferentes concentraciones*

Concentración [µg/mL]	% Actividad antioxidante			Promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación [%]
	R1	R2	R3			
100	24,344	23,655	23,360	23,786	0,505	0,021
200	50,131	48,360	49,738	49,409	0,930	0,019
500	53,379	53,773	53,871	53,675	0,260	0,005
1000	61,352	60,171	60,269	60,597	0,655	0,011

Tabla 44*Valores de absorbancia a 532 nm del antioxidante sintético BHT a diferentes concentraciones*

Concentración [µg/mL)	Absorbancia [532 nm]		
	R1	R2	R3
100	0,602	0,577	0,579
200	0,469	0,461	0,472
500	0,418	0,431	0,416
1000	0,391	0,394	0,388

Tabla 45

Porcentaje de actividad antioxidante del antioxidante sintético BHT a diferentes concentraciones

Concentración [µg/mL]	% Actividad antioxidante			Promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación [%]
	R1	R2	R3			
100	63,615	66,076	65,879	65,190	1,367	0,021
200	76,706	77,493	76,411	76,870	0,560	0,007
500	81,726	80,446	81,923	81,365	0,802	0,010
1000	84,383	84,088	84,678	84,383	0,295	0,003

Tabla 46.

ANOVA para el Porcentaje de Actividad Antioxidante de harinas precocidas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Factor A*	5430,74	2	2715,37	5531,29	0,0000
B: Factor B*	3679,23	3	1226,41	2498,23	0,0000
INTERACCIONES					
AB	295,037	6	49,1729	100,17	0,0000
RESIDUOS	11,7819	24	0,490911		
TOTAL (CORREGIDO)	9416,79	35			

**Factor A corresponde a la muestra a analizar y Factor B corresponde a las concentraciones.*

Fuente: Statgraphics, 2023