



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD EMULSIONANTE DE PROTEÍNA
EXTRAÍDA DE LA ARVEJA (*PISUM SATIVUM L.*) PARA SU APROVECHAMIENTO Y
VALORIZACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniero Biotecnólogo

AUTOR: DANIEL ALEJANDRO REYES GRANDA

TUTORA: ING. ANDREA PAOLA RODRÍGUEZ SÁNCHEZ, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2022

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Daniel Alejandro Reyes Granda con documento de identificación N° 1150573218,
manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la
Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o
parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 18 de octubre del 2022

Atentamente,



Daniel Alejandro Reyes Granda

1150573218

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Daniel Alejandro Reyes Granda con documento de identificación N° 1150573218, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo experimental: “Determinación de la capacidad emulsionante de proteína extraída de la arveja (*Pisum sativum L.*) para su aprovechamiento y valorización en la industria alimentaria”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero Biotecnólogo, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 18 de octubre del 2022

Atentamente,



Daniel Alejandro Reyes Granda

1150573218

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Andrea Paola Rodríguez Sánchez con documento de identificación N° 0302073127, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD EMULSIONANTE DE PROTEÍNA EXTRAÍDA DE LA ARVEJA (*PISUM SATIVUM L.*) PARA SU APROVECHAMIENTO Y VALORIZACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA, realizado por Daniel Alejandro Reyes Granda con documento de identificación N° 1150573218, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 18 de octubre del 2022

Atentamente,

**ANDREA PAOLA
RODRIGUEZ
SANCHEZ**



Firmado digitalmente
por ANDREA PAOLA
RODRIGUEZ SANCHEZ
Fecha: 2022.07.26
14:49:43 -05'00'

Ing. Andrea Paola Rodríguez Sánchez, Mgtr.

0302073127

DEDICATORIA

A mis padres Herman y Elizabeth, quienes son mi ejemplo a seguir y la principal inspiración para lograr cada paso de mi vida, por sus consejos, sus palabras de aliento y sobre todo por su apoyo incondicional durante toda esta etapa, gracias a sus principios y valores enseñados he podido llegar hasta aquí.

A mis hermanos, Pablo y Juan, quienes siempre me apoyaron y me recordaban lo fuerte y capaz que puedo ser, por estar a mi lado en todo momento con sus palabras de aliento a pesar de la distancia.

A mis compañeros y amigos, por siempre estar presentes, por su ayuda en los momentos difíciles y compartir felicidad en los buenos momentos.

AGRADECIMIENTO

A mis padres por todo el esfuerzo realizado para poder apoyarme durante mi etapa de estudios.

A todos los docentes de la carrera por los conocimientos compartidos durante la etapa universitaria.

A mis compañeros de carrera con quienes he compartido muchas experiencias.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	2
Capítulo 1	3
1.1. Introducción	3
1.2. Planteamiento del problema	4
1.3. Pregunta de investigación	5
1.4. Delimitación del Problema	6
1.5. Justificación de la investigación	6
1.6. OBJETIVOS	7
1.6.2. Específicos:	8
1.7. Hipótesis.	8
1.7.1. Hipótesis nula	8
1.7.2. Hipótesis alternativa	8
Capítulo 2	9
2. Marco Teórico	9
2.1. Estado del arte	9
2.2 Bases teóricas	13
2.2.1 Generalidades	13
2.2.3 Variedad botánica en el Ecuador	15
2.3.4 Valor nutricional	16
2.3.5 Harina de arveja	18
2.3.6 Proteínas	18

2.3.7 Propiedades Funcionales de la Proteínas	20
2.3.8 Extracción de proteínas	21
2.3.8.1 Obtención de concentrados proteicos	21
2.3.9 Propiedad emulsionante	22
2.3.10. Capacidad emulsionante y Actividad Emulsionante	22
2.3.11 Cuantificación proteica	23
2.3.11.1 Método Kjeldahl	23
2.3.12 Método de evaluación del Índice de Actividad Emulsionante [IAE]	24
Capítulo 3	25
3. Marco Metodológico	25
3.1 Nivel de investigación	25
3.2 Diseño de investigación	25
3.3 Población y muestra	25
3.3.1 Población	25
Variables independientes	26
Variables intervinientes	26
Variables Extrañas	26
3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	26
3.6 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	27
3.7 Procedimiento de laboratorio	27
3.7.1 Obtención de la muestra vegetal	27
3.7.2 Tratamiento de la materia prima	27
3.7.2.1 Preparación de las muestras	27

3.7.3 Obtención del concentrado proteico	27
3.7.4 Determinación del rendimiento del extracto proteico	29
3.7.5 Determinación de porcentaje de proteína de las muestras de extracto proteico de la harina de arveja	30
3.7.5.1 Método de determinación de proteína: Kjeldahl	30
3.7.6 Determinación de la Capacidad Emulsionante del extracto proteico de la harina de arveja	33
3.7.7 Determinación del índice de Actividad Emulsionante (IAE) del extracto proteico de la harina de arveja	34
3.7.8 Determinación del índice de Estabilidad Emulsionante [IEE] del extracto proteico de la harina de arveja	35
Capítulo 4	36
4.1. Resultados y discusión	36
4.2. Proceso de obtención del concentrado proteico de la harina de arveja	36
4.3. Proceso de determinación de porcentaje de proteína de las muestras de extracto proteico de la harina de arveja	38
4.4. Proceso de determinación de la Capacidad Emulsionante del extracto proteico de la harina de arveja	40
4.5. Proceso de determinación del índice de Actividad Emulsionante (IAE) del extracto proteico de la harina de arveja	42
4.6. Proceso de determinación del índice de Estabilidad Emulsionante (IEE) del extracto proteico de la harina de arveja	44
Capítulo 5	47
5. Conclusiones y recomendaciones	47
5.1 Conclusiones	47
5.2 Recomendaciones	48

6. Referencias Bibliográficas.	50
7. Anexos	55
7.1. Anexo 1: Tabla de abreviaturas	55
Anexo 2: Preparación de las muestras para obtención del extracto proteico	56
Anexo 3. Determinación capacidad emulsionante	58
Anexo 4: Determinación de Índice de Actividad y Estabilidad Emulsionante	61

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la capacidad emulsionante del extracto proteico de la harina de arveja [*Pisum sativum* L.]. La presente investigación se basa en tres pilares fundamentales; uno de ellos es encontrar nuevas y mejores fuentes de proteína vegetal, aprovechando de esta forma los recursos naturales que se cultivan en nuestro país en cantidades considerables, también. El segundo interés fundamental es, satisfacer la demanda cada vez mayor de alimentos nutritivos, principal consecuencia del aumento exponencial de la población y, por último, la investigación de nuevas propiedades funcionales como la de formar emulsiones. Para la obtención del extracto proteico de la harina de arveja se realizó mediante el proceso de precipitación isoeléctrica, luego, con el concentrado obtenido, evaluamos el porcentaje de proteína presente mediante el método Kjeldahl en el cual, el resultado más representativo fue para el tratamiento a pH 6 en el que se obtuvo un valor de: 13,64% de proteína. Se evaluó también, la capacidad emulsionante mediante el método establecido por Yasumatsu (1972), como resultado se obtuvo que: la muestra más representativa fue aquella tratada a pH 8, con un resultado promedio de 28,13%. Por último, se determinó otras propiedades como, índice de actividad emulsionante [IAE] y el índice de estabilidad emulsionante [IEE], fueron determinados a través del método establecido por Pearce y Kinsella (1978). En los que se determinaron los siguientes valores para IAE: 311,31 m²/g para el extracto tratado a pH 8 y para IEE un resultado de 100,17 min. para la muestra con pH 7. De este modo se llegó a la conclusión de que el extracto proteico de la harina de arveja [*Pisum sativum* L.] presentó actividad y estabilidad emulsionante a diferentes valores de pH por lo que puede ser considerado como un aditivo dentro la industria alimenticia.

Palabras clave: actividad emulsionante, proteína, estabilidad emulsionante

ABSTRACT

This research work, was developed with the purpose of determining the emulsifying capacity of the protein extract of pea flour [*Pisum sativum* L.]. This research is based on three fundamental pillars, one of them is to find new and better sources of vegetable proteins, taking advantage of the natural resources that are grown in our country in considerable quantities. The second fundamental interest is to satisfy the increasing demand for nutritious foods, which is the main consequence of the exponential increase in population, and finally, the search for new functional properties, such as the ability to form emulsions. To obtain the protein extract from pea flour, we use the isoelectric precipitation process. Then, with the concentrate obtained, the percentage of proteins present was evaluated by the Kjeldahl method in which the most representative result was for the treatment at pH 6 with a result of 13.64% protein. The emulsifying capacity was also evaluated according to the method established by Yasumatsu (1972), with the result that the most representative sample was the one treated at pH 8, with an average result of 28.13%. Finally, other properties such as the emulsifying activity index [EAI] and the emulsifying stability index [ESI] were determined according to the method established by Pearce and Kinsella (1978). The following values were determined for the EAI: 311.31 m²/g for the extract treated at pH 8 and for the ESI a result of 100.17 min for the sample at pH 7. Therefore, it was concluded that the protein extract of pea [*Pisum sativum* L.] flour presented emulsifying activity and stability at different pH values and, therefore, can be considered as an additive in the food industry.

Key words: emulsifying activity, protein, emulsifying stability

CAPÍTULO 1

1.1. INTRODUCCIÓN

En la dieta humana existen muchos grupos de alimentos básicos, destacándose las leguminosas, los cuales son conocidos, pero poco valorados a pesar de su contenido nutritivo, considerados fuentes de proteínas, minerales, vitaminas, fibra y carbohidratos, así como también compuestos fenólicos. (3)

La arveja, conocida de forma científica como *Pisum sativum* L., es considerada, una fuente importante de proteínas, ya que según la FAO esta especie contiene un porcentaje de 22,6% de proteína en peso seco, mientras que la harina de arveja contiene alrededor de 13 al 19% de proteínas, así mismo, de acuerdo a su composición, los principales aminoácidos que la conforman son: alanina, cisteína y tirosina, los mismos que se consideran de gran importancia en la alimentación y salud humana. (Fernandez y Guivar, 2016). (4)

En la actualidad, se ha incrementado el interés por el uso e investigación de concentrados proteicos, esto debido al aumento exponencial de la población, lo que genera una mayor demanda de nuevos productos que sean ricos en proteínas. De esta manera, surge la idea de usar la especie *Pisum sativum* L. como una alternativa de ingrediente funcional destinado a la industria alimentaria, demostrando que es apta dentro de esta industria debido a sus propiedades funcionales como: capacidad de absorción de agua, emulsificación, capacidad espumante, gelificante y capacidad de absorción de aceite (Vallejos, 2018). Asimismo, las leguminosas son una fuente importante de compuestos beneficiosos ya que poseen un efecto de protección en el desarrollo de enfermedades como son, cardiovasculares y celiacas (FAO, 2016). (5)

De acuerdo a lo antes mencionado, y a la gran importancia del análisis de la proteína de arveja, se exponen los diferentes enfoques del presente trabajo de investigación:

El primer enfoque se basa en la preparación de la muestra de estudio con la finalidad de obtener concentrados proteicos, el insumo principal para la investigación de sus propiedades funcionales. La materia prima que se usó es la harina de arveja, la misma que fue obtenida en un mercado de consumo masivo en la ciudad de Cuenca. La muestra fue elegida de forma aleatoria y previamente homogeneizada.

El segundo enfoque se basó en la determinación del porcentaje de proteínas para las tres muestras obtenidas de los extractos proteicos, estas, fueron evaluadas con distintos valores de pH, de 6,0; 7,0 y 8,0. Este proceso se realizó bajo el método de determinación de proteínas de Kjeldahl, en el cual, se comprobó que la solución tratada con pH 6 de precipitación fue la que obtuvo el mayor porcentaje de proteína de 13,64%.

El tercer enfoque se centró en obtener la capacidad emulsionante [CE], el Índice de Actividad Emulsionante [IAE] y el Índice de Estabilidad Emulsionante [IEE], el primer parámetro [CE] se determinó a través del método de Yasumatsu, (1972), mientras que los otros dos parámetros [IAE], [IEE], se determinaron con el método propuesto por Pearce y Kinsella (1978).

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La arveja (*Pisum sativum L.*) es una especie de leguminosa herbácea conocida y cultivada en gran cantidad en nuestro país, es generalmente usada para el consumo humano, ya sea directamente como semilla o también en productos elaborados como la harina. Su cultivo es importante a escala mundial, en el año 2018 fue de casi 19 toneladas por hectárea, para el 2019/2020, la producción ascendió hasta un total de 195,676 toneladas por año, mientras que para los años 2020/2021, disminuyó hasta un total de 194000 toneladas anuales. (INASE,

2022). De igual manera en nuestro país, en el año 2018 se produjo un rendimiento de 1973 kg/ha, presentando de esta forma, casi el 8% de la producción en todo el mundo. (FAO, 2018).

Inclusive en la actualidad, pese al uso y al consumo de esta semilla por varios años, no se le ha dado la suficiente importancia que tiene la proteína de la harina de arveja. En la industria alimentaria, se emplean en mayor proporción elementos importados de origen sintético para la fabricación de sus productos, pero existen investigaciones donde se demuestran muchos de los efectos tóxicos producidos por estos elementos, entre las más comunes están las alergias y el cáncer. (Díaz y Moncada 2017). Por esa razón, hace algunos años y a consecuencia del aumento tanto de enfermedades causante principal de los hábitos alimenticios, aumento de la población, y por ende a la crecida de las necesidades alimenticias, surgió el interés de encontrar nuevas fuentes naturales de proteínas. Con la finalidad de satisfacer dicha demanda, se empiezan a investigar especies vegetales, encontrando características importantes y propiedades funcionales que pueden aportar de forma significativa a la salud y alimentación de consumidores (FAO 2018).

Por tal motivo, surge el interés del presente trabajo de investigación, en el cual se pretende investigar una fuente alternativa para obtener proteínas vegetales, cuyos resultados podrán en un futuro ser usados para la elaboración de nuevos alimentos con mejores propiedades funcionales y de esa forma mejorar la salud de sus consumidores.

1.3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El extracto proteico de la harina de arveja puede ser usado como emulsionante en la industria alimenticia?

1.4. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios pertenecientes a la carrera de Ingeniería en Biotecnología, área Ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana, durante un lapso de 3 meses, teniendo las siguientes limitaciones:

- Tiempo
- Correcto funcionamiento de ciertos equipos
- Disponibilidad de equipos
- Poca facilidad en el uso de todos los equipos a disposición de estudiantes

1.5. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

De acuerdo a estudios realizados se pudo comprobar que la proteína de la arveja (*Pisum sativum* L.) Contiene un gran valor biológico que se sustenta en su composición aminoacídica. Por esta razón el consumo de la misma es de gran importancia ya que se sabe que otorga componentes como fibra, vitaminas, minerales y cierta cantidad de compuestos antioxidantes. Así mismo, estudios realizados por Quimís y Salazar (2017), confirmaron que en su composición se pueden encontrar fenoles, brindando así la capacidad de reducir enfermedades cardiovasculares al incluirla en su dieta alimenticia.

Para la realización del presente proyecto nos enfocaremos en la planta de arveja (*Pisum sativum* L.), esta especie es considerada una fuente rica en proteínas como; hierro, lisina, también es rica en fibra y en antioxidantes. Por su valor proteico y por su bajo precio esta proteína resulta accesible tanto de forma local como económicamente para la producción de alimentos con enfoques funcionales (Guevara 2016).

En cuanto a la capacidad emulsionante de la proteína, estas juegan un papel importante en sus aplicaciones como ingredientes alimentarios. Por ejemplo, la proteína con propiedades emulsionantes superiores podría usarse para preparar productos alimenticios estables, como

leche, crema, mayonesa, helado, mantequilla, etc. En la actualidad, la capacidad emulsionante (EA), la estabilidad de la emulsión (ES), índice de actividad emulsionante (EAI), índice de estabilidad emulsionante (ESI) y la estabilidad de la formación de crema (CS) son índices de calidad comúnmente utilizados para evaluar las propiedades emulsionantes de la proteína. Además, la capacidad emulsionante de la proteína también se evalúa a veces midiendo, el tamaño de las gotas o la distribución del tamaño de las gotas de la emulsión después de la homogeneización o durante el almacenamiento. Ge, J., *et al.*, (2020).

A modo de resumen, se plantea la presente investigación por diversas razones, una de ellas es la poca investigación a nivel nacional en cuanto al uso de las proteínas de origen vegetal en la industria alimenticia, otra de las razones se basa principalmente en el contenido proteico de la harina de arveja (*Pisum sativum* L.), y su capacidad emulsionante, por lo tanto, esta investigación consiste en sintetizar de forma ordenada y determinar el protocolo adecuado para la extracción de la proteína, las cuales podrán servir como referente para futuras investigaciones para continuar con el avance de la biotecnología en la industria alimenticia.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. General:

Obtener el concentrado proteico de harina de arveja (*Pisum sativum* L.) mediante métodos de extracción y cuantificación, identificando la capacidad emulsionante para su posterior uso en la industria alimenticia.

1.6.2. Específicos:

- Extraer el concentrado proteico de la harina de arveja (*Pisum sativum* L.) mediante precipitación isoeléctrica para su cuantificación.

- Determinar el contenido proteico del extracto de harina de arveja a través del método Kjeldahl para la evaluación de sus propiedades.

- Evaluar la capacidad emulsionante de los concentrados proteicos de la harina de arveja mediante el método de Yasumatsu, comparando parámetros para un resultado óptimo.

1.7. HIPÓTESIS.

1.7.1. Hipótesis nula

Ho: El concentrado proteico obtenido de la harina de arveja no posee actividad emulsionante evaluado con los dos métodos descritos.

1.7.2. Hipótesis alternativa

Ha: El concentrado proteico obtenido de la harina de arveja posee actividad emulsionante evaluado con los dos métodos descritos.

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ESTADO DEL ARTE

La arveja (*Pisum sativum* L.) es una de las especies más importantes en lo que respecta a cultivos comestibles en el mundo. Esta planta ocupa el puesto número cuatro dentro de la producción mundial, junto a especies como soja, frijol y maní (Di Yenno *et al.*, 2018). Se considera mucho la composición de esta especie, debido a que es apreciada por ser una fuente importante de proteína, aminoácidos esenciales, carbohidratos complejos, fibra y microelementos como; hierro, fósforo, calcio, magnesio y vitaminas como; B1, B2, C, E, PP y carotenos (De Almeida *et al.*, 2018).

En cuanto a los concentrados y aislados proteicos de origen vegetal, estos, muestran muchas ventajas, entre las más importantes, las ventajas económicas, estas son significativas en comparación a las proteínas lácteas y cárnicas, además de beneficios que presentan al ser alimentos funcionales (Jafari *et al.*, 2017). Cabe mencionar que esta especie es una fuente importante de proteínas, además posee aminoácidos esenciales, haciéndolo indispensable para establecer una alimentación saludable (Guevara, 2016).

En la actualidad existen pocas investigaciones en nuestro país relacionadas con el empleo de harina de arveja (*Pisum sativum* L.), uno de los estudios elaborado por Vallejos (2018), en el cual realizaba un proceso similar de extracción de proteínas, aplicando el método de precipitación isoeléctrica con diferentes rangos de pH, concluyendo así, que el tratamiento con mayor rendimiento proteico alcanzó un porcentaje de 11,4 % al ser tratado con un valor de pH de 4.0

De igual forma, otra investigación realizada por Celia *et al.*, (2018) incluyeron la harina de arveja en productos de panificación con la finalidad de brindar una alternativa complementaria en su perfil aminoacídico. En este mismo estudio se logró determinar que, cantidades considerables de proteínas y lisinas aumentaron de forma significativa en el producto final, pasando de 29% a un contenido de 88% en el caso de la lisina, usando para ello concentrados proteicos de harina de arveja.

Por otra parte, en otro estudio realizado por García *et al.*, (2020) aseguran que, con la finalidad de obtener un concentrado proteico y a través del método de hidrólisis enzimática se utilizó una dispersión con concentración de 9% (p/p) en agua MilliQ, ajustando la temperatura y pH. Se añadieron enzimas, se transfirió alícuotas a contenedores más pequeños con la finalidad de activar las enzimas, posteriormente los hidrolizados se enfriaron a temperatura ambiente y fueron neutralizados a un pH de 7.0. Por último, se caracterizó los resultados con un equipo de electroforesis obteniendo resultados importantes, donde evidenciaban la cantidad de enzimas presentes en la composición de los aislados proteicos de harina de arveja.

En ese mismo contexto, la investigación propuesta por Quispe (2017), en la cual, realizó el mismo proceso de precipitación isoeléctrica, seguido de extracción de proteínas llevado a cabo mediante hidrólisis química; en el cual, el autor agrega agua y ácido clorhídrico hasta conseguir un pH de 3.5. Posteriormente calentó la solución por 50 minutos con agitación constante, dando como resultado un precipitado en el tanque de hidrólisis con porcentajes satisfactorios de proteína.

En cuanto a estudios sobre la obtención de concentrados proteicos de la harina de arveja y cuantificación proteica realizador por Vallejos (2018), analiza distintos valores de pH desde

3.0 hasta 7.0, obtuvo los siguientes resultados para el rendimiento de los concentrados proteicos:

Tabla 1

Rendimiento de concentrados proteicos a distintos valores de pH.

Valores de pH	Rendimiento (%)	Varianza
pH 3,0	6,68 ± 0,4034	0,1627
pH 4,0	11,50 ± 0,3696	0,1366
pH 5,0	7,63 ± 0,8772	0,7694
pH 6,0	5,91 ± 0, 4120	0,1697
pH 7,0	5,23 ± 0, 6254	0,3912

Fuente: (Vallejos, 2018)

En el mismo estudio, pero en relación al proceso de cuantificación de proteínas de las muestras, Vallejos (2018) asegura que, el resultado con mayor cantidad de proteína obtenida a través del método Dumas, fue el tratamiento realizado a pH 8 y pH 6 con un valor aproximado de 84,26% y no se observaron variaciones significativas en el porcentaje proteico para valores de pH 5 y 7, todo lo contrario para valores de pH como 4 y 3 donde se obtuvo un menor contenido proteico con un porcentaje aproximado de 75.4% y 77.3% respectivamente, concluyendo así, que los tratamiento de pH de 4, 5, 6 y 7 poseen altas cantidades de proteína.

En cuanto a la capacidad emulsionante, el estudio realizado por Cabezas (2016), determinó que la proteína aislada de arveja con tratamientos a valores de pH4 y pH7 con y sin un proceso de centrifugación fueron de alrededor de 99.8 % mientras que las mismas muestras sometidas a un paso de centrifugación fueron de 0%. Determinando de esta forma que la proteína de arveja se ve fuertemente afectada por el proceso de centrifugación mas no por el cambio de pH.

En el mismo contexto, en cuanto a la capacidad emulsionante, Hayati *et al.*, (2019), determinaron en su estudio, en el cual comparaba el aislado de proteína de arveja con tres métodos de precipitación distintos, los valores que obtuvo para el índice de actividad emulsionante evaluado con el método de precipitación isoelectrica fue de 35.63 m²/g, para el segundo método, de extracción de sal, fue de 31.09 m²/g, para el tercer método, proceso de precipitación de ultrafiltración-diafiltración, fue de 36.29 m²/g. Determinando de esta forma que el índice de capacidad emulsionante se puede ver influenciado de forma directa por el método de extracción de proteínas.

En el mismo estudio evaluaba también el índice de estabilidad emulsionante, donde obtuvo los siguientes resultados, para el aislado proteico obtenido a través del proceso de precipitación isoelectrica fue de, 18.03 min. Para el segundo proceso de extracción de sal, fue de 12.90 min. Y para el tercer procedimiento de precipitación de ultrafiltración-diafiltración, fue de 18.86 min. Determinando de esta forma que, para las pruebas de índice de actividad emulsionante e índice de estabilidad emulsionante, el método que obtuvo mejores rendimientos fue el de, precipitación de ultrafiltración-diafiltración (UF/D)

En otro estudio realizado por Bourgeois *et al.*, (2011) y Maharjan *et al.*, (2019) determinaron que el contenido proteico en especies de (*Pisum Sativum L.*) y en especies vegetales en general, se ven afectadas por la variación genética, condiciones ambientales, así como también por su interacción, de igual forma, indicaron que factores ambientales pueden ser causante de alrededor del 25% hasta el 70% de la variación en el contenido proteico.

Búsquedas relacionadas también reportaron un cambio sustancial en el contenido proteico aun en la misma variedad de arveja, aplicando métodos iguales en condiciones controladas de temperatura y pH (Hayati *et al.*, 2019).

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Generalidades

El origen de la arveja *Pisum sativum* L. se establece en Oriente Medio y la región del Mar Mediterráneo. (ENA, 2016). Se conoce que esta especie ya se cultivaba hace 8000 años atrás aproximadamente en lugares como el Mediterráneo Oriental y en el Próximo Oriente. En la actualidad, en nuestra región los principales productores de arveja seca son: Argentina, Perú y Colombia, para la producción de arvejas verdes predominan países como: Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador y Perú (Vallejos, 2018).

De igual forma, se la considera una planta que pertenece al grupo de las leguminosas, posee ramificaciones extensivas que pueden alcanzar hasta los dos metros de altura. También posee un sistema poco desarrollado, pero cuenta con un sistema de raíces que tienen a profundizar, sus hojas están formadas por dos pares de folíolos terminadas en zarcillos, el fruto o sus semillas se encuentran en vainas que pueden medir alrededor de 5 cm. hasta 10 cm de largo, mismas que pueden almacenar de 4 a 10 unidades. Sus características funcionales le permiten tener una alta solubilidad frente al agua y su consumo promueve la operatividad intestinal, eliminando así grasas saturadas, aumentando de esta forma la proporción de energía y el tiempo de residencia de glucosa en la sangre (Merino, 2015).

Figura 1

Planta de arveja cultivada en Ecuador. Vainas con semillas.



Fuente: (Semillas Capelo, 2016)

Por otra parte, Cuasapaz (2015), para la revista El Agro, menciona que el cultivo de arveja en nuestro país, se compone de una importante extensión de superficie, ya que el terreno usado para su cultivo cuenta con características geográficas y climáticas adecuadas para el desarrollo óptimo de esta especie, de esta forma, predominan provincias de la sierra como: Azuay, Bolívar, Cañar, Carchi, Chimborazo, Loja, Imbabura y Pichincha, obteniendo dos tipos, en grano tierno y grano seco.

Es así, que el cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) actualmente en nuestro país, constituye una actividad de gran importancia debido a la gran demanda en el mercado tanto nacional como internacional, además, de esta actividad dependen un número importante de familias, de manera específica en la parte norte y centro de la región sierra (Merino, 2015).

2.2.2 Clasificación botánica

Según ITIS (2011), describe la siguiente clasificación botánica para la arveja:

Tabla 2

*Clasificación taxonómica de la arveja *Pisum sativum* L.*

Taxonomía	Nombre
Dominio	Eukarya
Reino	Plantae
Filo	Anthophyta
Clase	Eudicotyledones
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	Pisum
Especie	<i>Sativum</i> L.
Nombre científico	<i>Pisum sativum</i> L.
Nombre común	Arveja, guisante, chícharo

Fuente: (Checa *et al.*, 2022)

2.2.3 Variedad botánica en el Ecuador

Según INIAP (2017). Dentro de esta especie se distinguen tres variedades botánicas:

1. *Pisum sativum* L. spp. *Sativum* var. *Macrocarpon* Ser.: conocida comúnmente como arveja china, cultivada especialmente para consumo de sus vainas, debido a que no posee fibra en la unión de sus valvas y por carecer de endocarpio.
2. *Pisum sativum* L. spp. *Sativum* var. *Sativum*: conocida comúnmente como arveja, guisante, arveja de jardín, etc. Esta especie es cultivada con el fin de obtener granos tiernos inmaduros que son usado en su mayoría para el consumo humano y también para ser procesado y elaborar productos enlatados y congelados.

3. *Pisum sativum* L. spp. Sativum var Arvense L. Poir.: Sus nombres comunes son: arveja seca, arveja forrajera, etc. Especie cultivada para la obtención de granos secos usados principalmente para el consumo humano y animal.

2.3.4 Valor nutricional

Esta especie tiene gran importancia en el consumo diario, debido a que posee fuentes importantes de proteínas, carbohidratos, fibras, minerales y vitaminas. Además de presentar un bajo contenido de colesterol, sodio y ser libres de gluten, razón por la cual es consumido por personas que padecen enfermedades como la diabetes, enfermedades celiacas y cardiovasculares (Vallejos, 2018).

Tabla 3.

Composición química de la arveja

Compuesto	Valor en 100 g de parte comestible
Energía	333 kcal
Proteínas	22,6 g
Grasas	0,8 g
Carbohidratos	58,9 g
Glúcidos	60,10 g
Fibra	5,70 g
Calcio	70 mg
Hierro	5,60 mg
Vitamina A	8,67 mg
Vitamina E	0,10 mg

Fuente: FAO (2016)

Es importante también mencionar su contenido de aminoácidos, y saber también que el contenido de estos depende de la composición del suelo y aditivos usados durante su cultivo como abonos o fertilizantes, además de la especie a la que pertenecen y a la variedad de grano (Cabezas, 2016).

Tabla 4.

Composición de aminoácidos esenciales presentes en la arveja

Aminoácidos	% por peso sobre la base de alimento
Arginina	1,10
Ácido glutámico	2,31
Cisteína	0,23
Metionina	0,45
Treonina	0,98
Isoleucina	0,94
Leucina	1,84
Lisina	1,57
Valina	1,41
Triptófano	0,34
Tirosina	0,84
Histidina	0,71
Fenilalanina	1,0
Histidina	0,71
Prolina	1,07

Fuente: Cabezas (2016)

2.3.5 Harina de arveja

La harina de arveja (*Pisum sativum* L.) es importante porque se la considera como una fuente de proteínas con bajo costo, alta accesibilidad y un escaso uso en la elaboración para productos de consumo masivo. También es un producto de origen natural, obtenido de granos y cereales previamente seleccionados que fueron sometidos a un proceso de molienda hasta lograr obtener un producto o harina homogénea (Suquillo, 2019).

Las harinas a base de cereales tienen contenidos relativamente bajos de proteínas y presentan un déficit en aminoácidos como la lisina, por otro lado, la harina de arveja contiene alto contenido proteico y es conocido como una importante fuente de proteínas en circunstancias donde cereales o leguminosas no pueden ser consumidas por reacciones alérgicas o intolerancias.

Por otra parte, las legumbres presentan deficiencias en aminoácidos como metionina, todo lo contrario de los cereales, por esta razón, las mezclas de leguminosas con cereales pueden superar estas carencias, esto, con la finalidad de aumentar la calidad proteica incluidas en la elaboración de productos de consumo masivo (Quimís y Salazar, 2017).

2.3.6 Proteínas

Son moléculas formadas por aminoácidos, unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. El orden, la composición de los aminoácidos, estructura, secuencia, carga neta, punto isoeléctrico, solubilidad y demás características son únicas para cada proteína. En cuanto a la proteína vegetal, esta contribuye de forma importante en la dieta, como un recurso alimenticio significativo debido a que contiene aminoácidos esenciales para lograr satisfacer diversas necesidades fisiológicas humanas (Luque, s.f.).

En los últimos años se ha incrementado el interés en el uso de la arveja (*Pisum sativum* L.) para la elaboración de productos de valor agregado. En especial, la proteína de arveja ha recibido mayor atención debido a su alto valor nutritivo y por sus diversas propiedades funcionales, dichas propiedades provocaron el aumento del uso de las proteínas de especies de leguminosas en la industria alimentaria, por ende, se han realizado más investigaciones sobre la funcionalidad de las proteínas de diferentes especies (Cabezas, 2016).

En la especie *Pisum sativum* L. El porcentaje de proteína se puede encontrar en diferentes concentraciones. Para el caso de los concentrados proteicos, el porcentaje es alrededor del 60% de proteína, mientras que para aislados proteicos el porcentaje es de aproximadamente 85%. Además de su importante contenido de aminoácidos esenciales como L-Lisina y L-Arginina (Perez *et al.* 2016).

Es importante también mencionar las cualidades que tienen las proteínas específicamente las que encontramos en la harina de arveja. Según Merino, (2015):

Afirma que, el contenido de proteínas en la mayoría de especies de leguminosas representa una buena fuente de lisina, pero carecen de un perfil aminoacídico y de compuestos que contienen azufre como lo son, la cisteína, metionina y triptófano, por lo que, su consumo se debe suplementar con el aporte de otros componentes en la dieta. Se determinó también que la arveja, proporciona aproximadamente el doble de proteínas en comparación con cereales y en cuanto a carnes, está sin duda aporta una cantidad sustancial de proteína, pero solamente la mitad en comparación a esta.

En la siguiente tabla se detalla la composición nutricional del guisante.

Tabla 5.

Composición nutricional de la arveja Pisum sativum L. en 100g

Compuestos	Contenido
Proteína total	21,7g
Carbohidratos	62,1g
Fibra dietaria	16,7g
Vitamina B1	0,7 mg
Vitamina B2	0,3 mg
Vitamina B3	2,2 mg
Vitamina C	3,2 mg
Calcio	32,0 mg
Fósforo	109 mg
Hierro	5,2 mg

Fuente: (Atiencia, 2021)

2.3.7 Propiedades Funcionales de la Proteínas

Las características funcionales han sido definidas como toda propiedad fisicoquímica de las proteínas, estas pueden afectar a las características y el comportamiento de los alimentos en los que se encuentren presentes o fueron agregadas para contribuir a la calidad final de dicho producto.

Tenemos cualidades de hidratación, que son dependientes de la interacción proteína-agua, y son aquellas propiedades conocidas como, absorción, dispersabilidad, solubilidad, retención de agua, viscosidad.

Otra propiedad, dependiente de la interacción proteína-proteína, son aquellas características como; coagulación, gelificación, elasticidad, adhesividad y dureza. También

están los rasgos que dependen de la interacción que existe entre la proteína con dos fases inmiscibles (agua/aceite, agua/aire) y son, aquellas conocidas como: emulsificantes y espumantes (Plúas y Valdiviezo, 2017).

A continuación, se muestra un análisis proximal de la harina de arveja (*Pisum sativum* L.)

Tabla 6.

Análisis proximal de la harina de arveja (Pisum sativum L.)

Muestra	Parámetros	Método	Contenido (%)
Harina de arveja (<i>Pisum sativum</i> L.)	Humedad	INSP-LAB-SOP-001/AOAC 19th 930.15	11,16
	Ceniza	INSP-LAB-SOP-005/AOAC 19th 942.05	1,76
	Grasa	AOAC 20th 920.85/920.39 C	3,39
	Proteína	AOAC 20th 979.09	14,70
	Fibra	AOAC 20th 978.10	0,53

Nota: Los resultados de los parámetros corresponden a la unidad porcentual. Fuente: Datos tomados de “Obtención de concentrado proteico a partir de *Pisum sativum* L. como sustancia enriquecedora de productos panificados” (Atiencia, 2021)

2.3.8 Extracción de proteínas

2.3.8.1 Obtención de concentrados proteicos

Para este proceso, la muestra, en nuestro caso, harina de arveja es usada para la obtención de concentrados proteicos mediante precipitación isoeléctrica, método propuesto por Martínez y Añón (1996). Este método consiste en disolver la muestra en agua ultra pura, ajustar

el pH hasta el punto isoeléctrico con ayuda de un ácido disuelto, posteriormente centrifugar la muestra y el resultado de este paso se debe congelar para la posterior liofilización para la evaluación correspondiente del rendimiento proteico y la cuantificación proteica (Vallejos 2018).

2.3.9 Propiedad emulsionante

Las emulsiones son gotas inmiscibles dispersas en una fase líquida y son estabilizadas por componentes de interfase. Los compuestos de interfase también son conocidos como emulsionantes, estos corresponden a un grupo de agentes con superficies activas que tienen la capacidad de estabilizar una dispersión entre dos líquidos inmiscibles (Lam *et al.*, 2017).

Las proteínas por su naturaleza son buenos agentes emulsionantes en alimentos, actúan como surfactantes, pero esto depende de su capacidad de formar películas que puedan rodear los glóbulos con la finalidad de disminuir la tensión en la interfase de los líquidos aceite-agua (Stone *et al.*, 2015).

En el caso de la estabilidad de la emulsión, esta depende de la capacidad de las gotas emulsionadas de permanecer en una fase dispersa sin separarse por la floculación o coalescencia. Es así, que si la carga neta es más alta de una proteína en la interfase aceite-agua la repulsión entre gotas será mayor por lo que se mejorará la estabilidad de la emulsión formada (Lam *et al.*, 2017).

2.3.10. Capacidad emulsionante y Actividad Emulsionante

Se conoce como capacidad emulsionante [CE] a la propiedad que tienen las proteínas de ligar grasas, es una propiedad de gran importancia en la aplicación y desarrollo de muchos productos en la industria alimentaria. El rol que cumplen las proteínas en las emulsiones es, la

de formar una monocapa interfacial entre las dos fases que componen la emulsión, la fase apolar y la fase polar, cambiando de esta forma su conformación orientando sus grupos de acuerdo a la fase expuesta (Exena-Cantú *et al.*, 2019).

En cuanto a la actividad emulsionante, este índice de emulsión de las proteínas se ve afectado por la tasa de adsorción de proteínas en la interfaz aceite-agua, también por otros factores como, la cantidad de proteína adsorbida, por el grado de reducción de la tensión interfacial y por la formación de una película cohesiva. La capacidad emulsionante [CE] para la proteína extraída de la harina de arveja fue calculada como el porcentaje de volumen de la capa emulsionada dentro de todo el contenido en el vaso de medida (González 2020). Este parámetro fue determinado con ayuda del método de Yasumatsu *et al.*, (1972), por lo tanto, se formó la emulsión y se comparó el volumen inicial con el volumen final después de la formación de la emulsión, esta propiedad se la mide en gramos de proteínas por cada mililitro de aceite emulsionado [gramos/ml] (Borbolla 2019).

2.3.11 Cuantificación proteica

2.3.11.1 Método Kjeldahl

Existen distintos métodos para lograr la caracterización del contenido de proteínas como; métodos espectrofotométricos, métodos cuantificadores de nitrógeno total; entre estos están, Kjeldahl y el método Dumas.

Para nuestro caso, el método Kjeldahl determina la cantidad de nitrógeno que se encuentra presente en nuestra muestra. El contenido de proteínas se puede calcular asumiendo una proporción entre el nitrógeno presente y la proteína en la muestra analizada. Este proceso se divide en tres etapas: digestión, destilación y valoración o titulación (Lanza *et al.*, 2016).

2.3.12 Método de evaluación del Índice de Actividad Emulsionante [IAE]

El índice de actividad emulsionante [IAE], depende de cambios conformacionales en las proteínas, esto se debe al hecho de que la conformación de la proteína tiene un impacto directo sobre propiedades como, hidrofobicidad, solubilidad, flexibilidad proteica entre otras.

Según Pearce y Kinsella (1978), “el IAE está relacionado con la capacidad de la proteína de ser absorbida en la superficie de los glóbulos de grasa y su capacidad de desplegarse/extenderse sobre la interfaz, estabilizando la nueva área creada” (p. 716). Este parámetro se encuentra asociado al área de las gotas de aceite dispersas en función del volumen de aceite y de la concentración de proteína usada en la solución

CAPÍTULO 3

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se basa en un método experimental cuantitativo descriptivo, debido a que una vez que los datos estadísticos fueron obtenidos durante el proceso, se realizó una interpretación sobre la acción emulsionante del extracto proteico de la harina de arveja. De igual forma, esta investigación se sustenta desde un enfoque exploratorio y descriptivo ya que se pretende demostrar la importancia del uso de la proteína vegetal en la industria alimentaria.

3.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio se encuentra dentro de un diseño predictivo experimental, debido a que el extracto proteico de la harina de arveja se va a someter a diferentes procesos fisicoquímicos, con el fin de obtener una de las principales propiedades funcionales para la aplicación de la misma en la industria de alimentos.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1 POBLACIÓN

Para el presente trabajo se tomó en cuenta como población 500 gramos de harina de arveja, elaborado por CONDIMENSA, obtenidos en un mercado de productos de consumo masivo de la ciudad de Cuenca.

De esta población se extrajo una muestra homogénea en la que se eliminó cualquier residuo que pueda afectar en la obtención del resultado final.

3.4. VARIABLES

Variables Dependientes

- Actividad Emulsionante

Variables independientes

- Pretratamiento aplicado a la población de estudio en el proceso de fabricación
- pH
- Rendimiento proteico
- Contenido proteico
- Actividad emulsionante

Variables intervinientes

- Condiciones ambientales
- Condiciones de laboratorio

Variables Extrañas

- Temperatura, altitud, latitud y condiciones de cultivo de la especie usada para la fabricación de la harina de arveja
- Genotipo y especie de arveja usada como objeto de estudio.

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Las técnicas usadas para recolectar datos fueron, la observación documental a través de la ayuda de la información bibliográfica, artículos publicados en revistas científicas, tesis y libros encontrados en diferentes bases de datos como Scielo, Dialnet, Springer, Scopus y Google Escolar, entre otros. Adicionalmente, la recolección de datos se realizó mediante

observación no estructurada, con ayuda de instrumentos como, computadora, diario de campo, celular [fotografías].

3.6 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en el estudio serán sometidos a una clasificación, donde se recopilarán dichos resultados, haciendo uso de tablas, gráficos, para posteriormente realizar el análisis de datos a través del empleo de distintos programas: *Microsoft Word 2019*, *Microsoft Excel 2019* y *Minitab19*.

3.7 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

3.7.1 Obtención de la muestra vegetal

Se obtuvo la muestra de 800 gramos de harina de arveja, elaborado por la empresa; CONDIMENSA, distribuido por Corporación “La Favorita” en un supermercado de consumo masivo en la ciudad de Cuenca, Ecuador

3.7.2 Tratamiento de la materia prima

3.7.2.1 Preparación de las muestras

Una vez organizados todos los materiales y reactivos en el lugar de trabajo, iniciamos con la limpieza de material y registro de peso de las muestras para proceder a la obtención del extracto proteico, para eso se realizó una división y pesado de tres extractos de la población, correspondientes a tres tratamientos a realizarse para iniciar el proceso de análisis experimental de la presente investigación.

3.7.3 Obtención del concentrado proteico

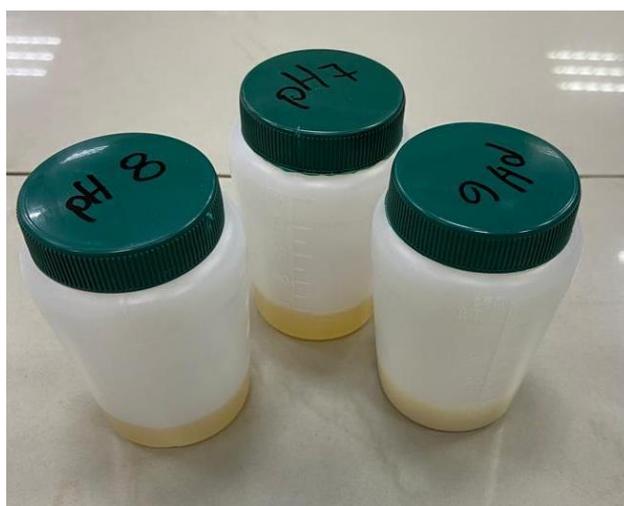
Como primer paso buscamos obtener concentrados de proteínas presentes en la harina de arveja (*Pisum sativum* L.). Se realizó este proceso a través del método de precipitación isoelectrica usando las bases planteadas por Martínez y Añón (1996). Para ellos se disuelve la muestra en relación (1:10), es decir, 10 gramos de la harina de arveja fueron disueltas en 100 mililitros de agua MiliQ. Siguiendo con el proceso, se debe ajustar el pH a 8 utilizando NaOH 1M con ayuda de una planta de agitación VWR a una velocidad de 400 rpm por 60 minutos.

Posteriormente se ajustó el pH para las diferentes muestras con ayuda del HCl [2N]. Una vez obtenidas las tres muestras seguimos con el paso de centrifugación por un lapso de 20 minutos a 2424 rpm.

El resultado del paso anterior, es decir el precipitado obtenido, se congeló a -32°C por al menos 12 horas para posteriormente ser liofilizados y obtener los concentrados proteicos (Vallejos 2018).

Figura 2.

Preparación de muestras para la obtención del extracto proteico



Nota: Fotografía tomada durante el proceso, en los laboratorios de “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor

3.7.4 Determinación del rendimiento del extracto proteico

Para efectuar este procedimiento, se utilizaron las muestras liofilizadas obtenidas con anterioridad, luego, se pesaron las tres muestras obtenidas de este proceso y se compararon con la cantidad de harina usada al inicio del mismo, como se describe a continuación.

A partir de un extracto de la población inicial de estudio, se usaron 30 g de muestra y 100 mL de agua Milli-Q como solvente, posteriormente se procedió a la mezclar con ayuda de una planta de agitación por 40 minutos, se aumentó el pH hasta 8 para la solubilización de la proteína y se disminuyeron los valores de pH para la precipitación de la misma, se centrifugaron las muestras, se congelaron a -30°C por al menos 20 horas, por último, se realizó la liofilización. Una vez obtenido el producto final, se procedió al pesaje del mismo y a realizar los cálculos respectivos para la obtención del rendimiento proteico.

El cálculo del rendimiento en la obtención de concentrados proteicos de harina de arveja fue calculado en base a la masa del concentrado, mediante la aplicación de la fórmula:

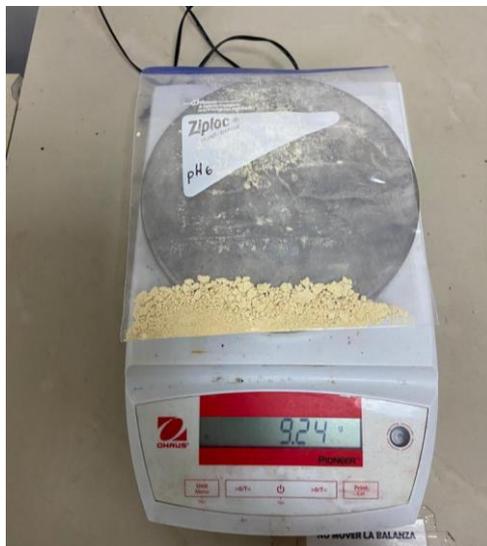
$$\%R = \frac{W_f}{W_0} \times 100 [1]$$

Dónde:

- %R: Rendimiento de la concentración de proteína de harina de arveja.
- W_f : masa en gramos del concentrado liofilizado.
- W_0 : masa en gramos inicial de harina de arveja. (Vallejos 2018)

Figura 3

Proceso de pesaje de muestras para la determinación del rendimiento del extracto proteico



Nota: Proceso de pesaje de resultados de concentrado proteico para la obtención de rendimientos. Fotografía tomada durante el proceso, en los laboratorios de “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor

3.7.5 Determinación de porcentaje de proteína de las muestras de extracto proteico de la harina de arveja

3.7.5.1 Método de determinación de proteína: Kjeldahl

La muestra fue analizada por el Laboratorios MSV, en la ciudad de Cuenca, cumpliendo con el protocolo AOAC 991.20

En este estudio se analizaron tres muestras con pH 6, 7 y 8. Este método se basa en el siguiente proceso.

- Digestión

El objetivo de este paso es romper todos los enlaces de nitrógeno de la muestra y convertir todo ese nitrógeno unido de forma orgánica en iones amonio (NH_4^+). La materia orgánica se carbonizará dando lugar a la formación de una espuma negra. Durante la realización

de este paso, la espuma se descompondrá y se convertirá en un líquido claro, indicando que la reacción ha terminado.

Se agita la muestra que fue colocada en un vaso de precipitación con ayuda de un agitador magnético durante 60 segundos a 700 rpm, con el fin de homogeneizar la muestra.

Extraer 5 mL de muestra en un tubo de 250 mL de equipo de digestión con ayuda de una pipeta, en cada tubo de muestra se debe añadir:

- 2 tabletas de catalizador VCM
- 20 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) (96-98%)
- 5 mL de peróxido de hidrógeno (~30%)

Es importante preparar muestras blanco con todos los reactivos, pero sin la presencia de muestra.

Se empieza el proceso de digestión siempre y cuando la unidad esté conectada a una adecuada bomba de aspiración de gases y un sistema de neutralización de humos, con la finalidad de neutralizar vapores ácidos que se generan en el proceso de digestión.

Se deben digerir las muestras durante 15 minutos a 150°C, 15 minutos a 250° y por último 40 minutos a 420°C.

- Destilación

La muestra ácida se neutralizará por medio de una solución concentrada de hidróxido de sodio. Durante este paso, los iones amonio (NH_4^+) se convertirán en amoniaco (NH_3) que será arrastrado al vaso receptor por medio de la corriente del vapor de agua.

Durante el proceso de destilación los iones amonio (NH_4^+) se convierten en amoniaco (NH_3) mediante la adición de un álcali (NaOH). El amoniaco (NH_3) es arrastrado al vaso receptor por medio de una corriente de vapor de agua.

El vaso receptor se debe llenar con una solución absorbente para capturar el gas amoniaco, la solución más común es el H_3BO_3 .

Una vez concluido el paso de digestión, se deben dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente, posteriormente se debe acondicionar la unidad UDK 169 con Autokjel mediante la ejecución del Check-up y Wash-down en el menú del sistema.

Durante este paso, las muestras deben destilarse según los siguientes parámetros:

- H_2O : 50mL
- H_2SO_4 : 0.1N como agente valorante
- NaOH (32%): 70 mL
- H_3BO_3 (solución absorbente): 30 mL
- Factor proteína: 6.25
- Valoración

Cuando se usa ácido bórico como solución absorbente, se debe llevar a cabo una valoración ácido-base utilizando para ello una solución estandarizada de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico.

La detección del punto final se puede realizar manualmente, a través de una valoración colorimétrica usando la combinación de dos indicadores (rojo de metilo y azul de metileno).

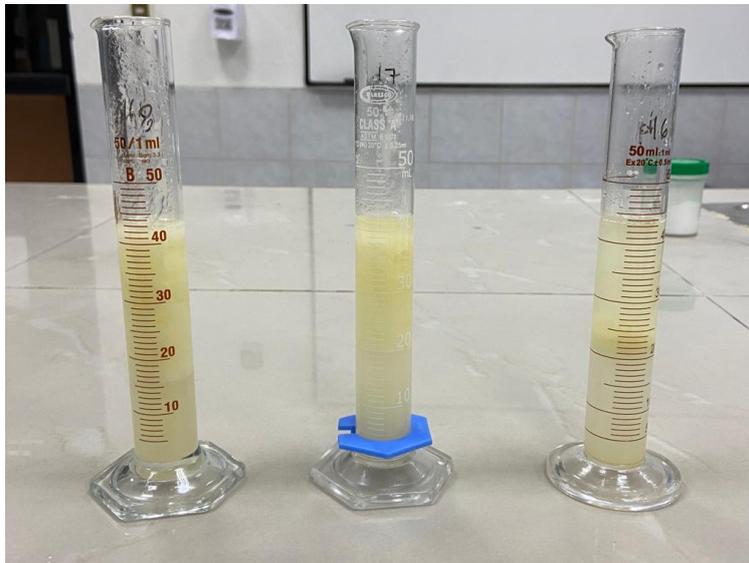
Llerena (2019)

3.7.6 Determinación de la Capacidad Emulsionante del extracto proteico de la harina de arveja

La capacidad emulsionante del extracto proteico obtenido de la harina de arveja, fue determinada según el método de (Yasumatsu *et al.*, 1972), con pequeñas variaciones, se usaron 3g de muestra del extracto proteico para cada tratamiento, las muestras fueron diluidas en 25mL de agua destilada y 25mL de aceite de girasol comercial los valores de pH fueron ajustados a 6.0, 7.0 y 8.0 (utilizando soluciones de HCl 2N y NaOH 1M), las soluciones proteicas formadas fueron agitadas por 3 minutos a una velocidad de 1500 rpm usando un mezclador de laboratorio de alto cizallamiento marca Silverson, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 2000 rpm. durante 5 minutos.

Figura 4.

Muestras obtenidas tras el proceso de formación de la emulsión



Fuente: Autor

La capacidad emulsionante se expresó como se muestra a continuación:

$$CE = \frac{\text{Volumen final de la emulsión}}{\text{Volumen inicial de la emulsión}} \times 100 \quad [2]$$

3.7.7 Determinación del índice de Actividad Emulsionante (IAE) del extracto proteico de la harina de arveja

Se determinó la IAE usando el método de Pierce y Kinsella 1978. Para esto se realizaron dispersiones de 0.01% [p/v] de proteína en 150mL de agua Milli-Q y se homogenizó con ayuda de un mezclador de laboratorio de alto cizallamiento marca Silverson, durante 5 minutos [2 minutos a 1000rpm y 3 minutos a 3500rpm] para crear una emulsión aceite en agua (O/W). De forma inmediata se tomó una alícuota de 30 μ L del fondo del vaso de precipitación mismo que se lo diluyó en 3mL de dodecil sulfato sódico [SDS] al 0.1% (p/v). Se procedió a medir la absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Genesys20 [ThermoSpectronic].

Figura 5

Emulsiones usadas para medir el IAE y IEE



Nota: Emulsiones formadas a pH 8,0; 7,0 y 6,0. Fuente: Autor

Se determinó el índice de actividad emulsionante [IAE] de la muestra mediante la ecuación:

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{C \times \varphi \times 10000} * 100 \quad [3]$$

Donde:

- A_0 es la absorbancia de la emulsión diluida de forma inmediata después de realizada la homogeneización
- N es el factor de dilución
- C es el peso de la proteína por volumen [g/mL]
- φ es la fracción de volumen de aceite de la emulsión

3.7.8 Determinación del índice de Estabilidad Emulsionante [IEE] del extracto proteico de la harina de arveja

Se determinó el índice de estabilidad emulsionante [IEE] de la muestra mediante el mismo método, la muestra, es decir, la emulsión generada para la medición de IAE se dejó reposar por 10 minutos y se determinó el cambio de absorbancia entre el minuto 0 y el minuto 10.

Se determinó el índice de estabilidad emulsionante [IEE] mediante la ecuación:

$$IEE (min) = \frac{A_0}{\Delta A} * t [4]$$

Donde:

- A_0 es la absorbancia en el minuto 0
- ΔA es la diferencia entre la absorbancia al minuto 0 y al minuto 10 obtenidos mediante el espectrómetro
- t es el tiempo [10]. (Pearce y Kinsella 1978)

CAPÍTULO 4

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2. PROCESO DE OBTENCIÓN DEL CONCENTRADO PROTEICO DE LA HARINA DE ARVEJA

A través del proceso de precipitación isoelectrica, se obtuvieron los extractos proteicos de la harina de arveja, para posteriormente determinar los diversos rendimientos que mostraba a diferentes valores de pH.

Los resultados se presentan a continuación.

Tabla 7

Datos obtenidos de la obtención del extracto proteico de harina de arveja

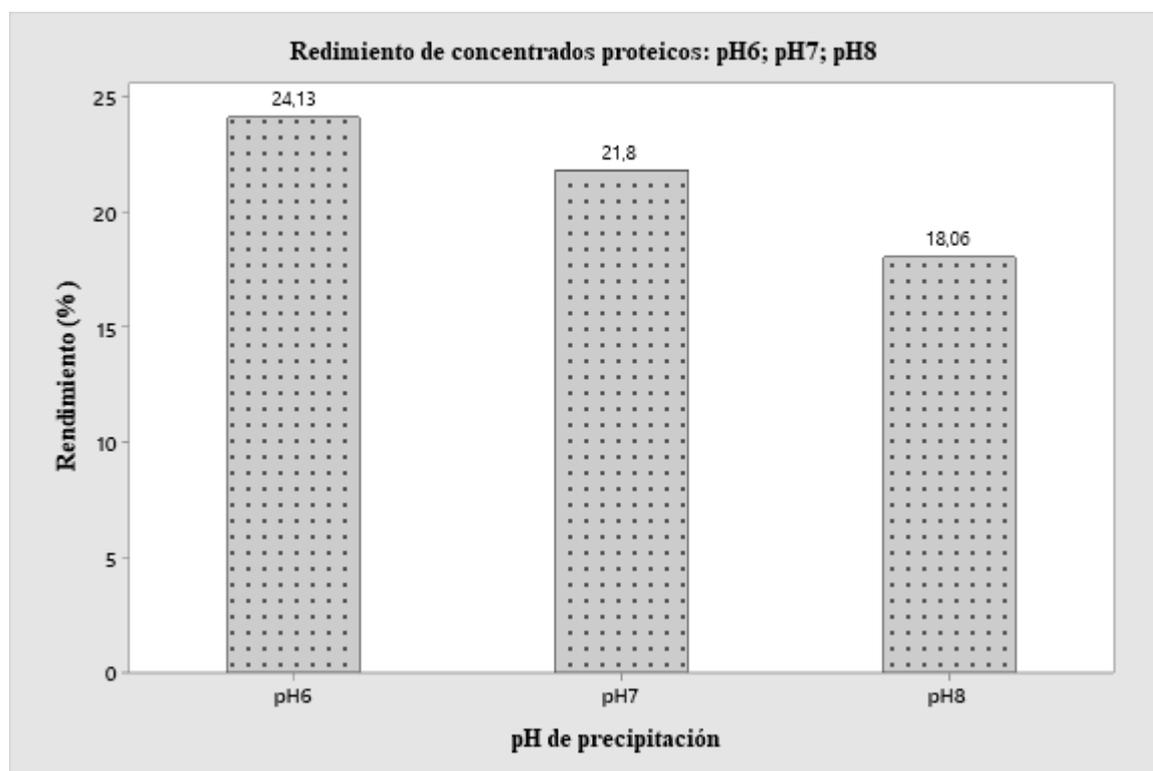
Muestras	Peso inicial de la muestra (g)	Solvente	Peso final de la muestra (g)	Rendimiento del concentrado proteico (%)
pH8	10	100 mL de agua Milli-Q	2,71	18,06
pH7	10		3,27	21,8
pH6	10		3,62	24,13

Nota: Como resultado se obtuvo tres diferentes valores para las tres muestras. Para la muestra de pH8: 18,06%. Para la muestra de pH7: 21,8% y para la muestra de pH6: 24,13%. Fuente:

Autor

Figura 6

Gráfico de barras de resultados obtenidos del rendimiento del concentrado proteico



Nota: Gráfico de barras donde se muestran los resultados de rendimientos de los tres concentrados proteicos realizados con distintos valores de pH. Fuente: Autor

La media del porcentaje de rendimiento obtenido al final de este procedimiento es de 24,13% para el extracto evaluado con pH 6, de 21,80% para la muestra estudiada con pH 7 y de 18,06% para el extracto de la harina de arveja evaluada con pH 8, concluyendo de esta forma, que el extracto con un mejor rendimiento proteico fue obtenido a través del método de precipitación isoelectrica y evaluada con pH 6, objetando lo establecido por Vallejos (2018), quien aplicó el mismo procedimiento, evaluó los mismos valores de pH y determinó que la muestra con un mejor porcentaje de rendimiento fue aquella tratada con pH 4, obteniendo un

resultado promedio de 11,50% mientras que para la muestra evaluada a un pH de 6, en la misma investigación obtuvo un resultado promedio de 5,91%.

4.3. PROCESO DE DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE PROTEÍNA DE LAS MUESTRAS DE EXTRACTO PROTEICO DE LA HARINA DE ARVEJA

Partiendo del extracto proteico obtenido mediante la aplicación del procedimiento anterior, se procedió a realizar la cuantificación de proteínas en las muestras, para esto se realizó un análisis mediante el método Kjeldahl, uno de los métodos más usados para la cuantificación de proteínas en muestras de alimentos.

Una vez que se obtuvieron los concentrados proteicos, se enviaron las muestras al laboratorio “MSV, laboratorio de alimentos, suelos y aguas”, con el fin de realizar el análisis. Para esto, se destinaron 50 g de cada muestra del extracto proteico. A posteriori se llevaron a cabo los procesos de digestión, destilación y valoración obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 8.

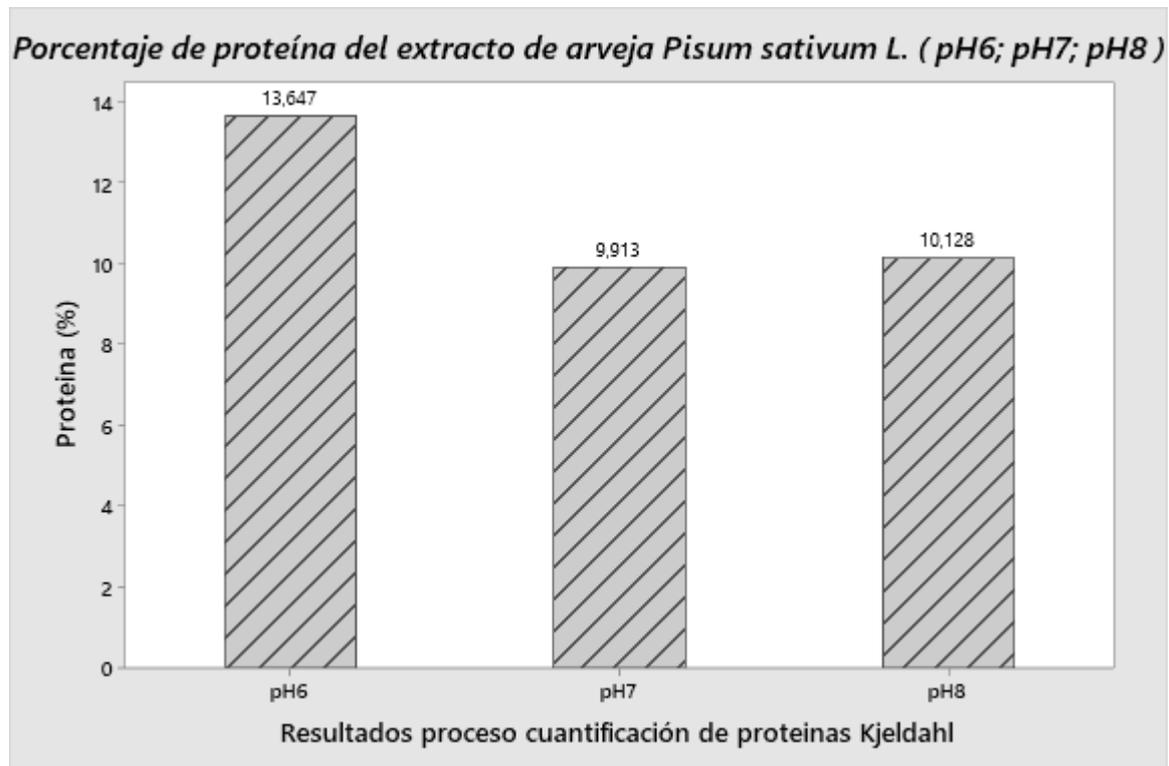
Resultados obtenidos del análisis de contenido proteico mediante el método Kjeldahl

Muestras	Parámetro	Método - Técnica	Cont. proteico (%)
pH 8	Proteína	AOAC 991.20 - Volumetría	10,128
pH 7			9,913
pH 6			13,647

Fuente: (Laboratorio MSV, 2022).

Figura 7

Porcentaje de proteína para los extractos obtenidos de la harina de arveja *Pisum sativum L.*



Nota: Gráfico de barras, se muestran los distintos valores obtenidos para las 3 muestras evaluadas a pH 6, 7 y 8. Fuente: Autor

Mediante este análisis se determinó que la muestra evaluada a pH 6 contiene el mayor porcentaje de proteína, mientras que para las dos muestras restantes de pH 7 y pH 8 no se obtuvo una diferencia significativa entre estas, obteniendo un resultado de 9,91% y 10,12% respectivamente. Por lo tanto, el extracto con mayor porcentaje de proteína en su composición fue aquella evaluada a pH 6 de precipitación, con un resultado de 13,64 % que, comparado con el resultado del estudio realizado por Hayati *et al.*, (2019) se obtuvo un menor porcentaje de proteína, pese a que se realizó el mismo procedimiento de precipitación isoeléctrica y análisis del contenido proteico mediante el método Kjeldahl, en dicho estudio, el autor obtuvo un resultado de 80,03% de proteína.

Como se observa en los resultados, la harina de arveja [*Pisum sativum* L.] presentó un contenido proteico mayor de 13,64%, este valor se aproxima a lo determinado por FAO (2013), en donde estableció que la harina de arveja en promedio contiene un valor de 19% de proteínas para semillas cultivadas en nuestro país.

Por último, es importante destacar que un mayor contenido proteico en el extracto obtenido respecto a proteínas vegetales se debe a la forma de extracción de las mismas.

4.4. PROCESO DE DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD EMULSIONANTE DEL EXTRACTO PROTEICO DE LA HARINA DE ARVEJA

Para efectuar este procedimiento se cumplió con el método de Yasumatsu *et al.*, (1972), y se obtuvieron los resultados para cada muestra cómo se presenta a continuación:

Tabla 9

Resultados proceso de evaluación capacidad emulsionante del extracto proteico

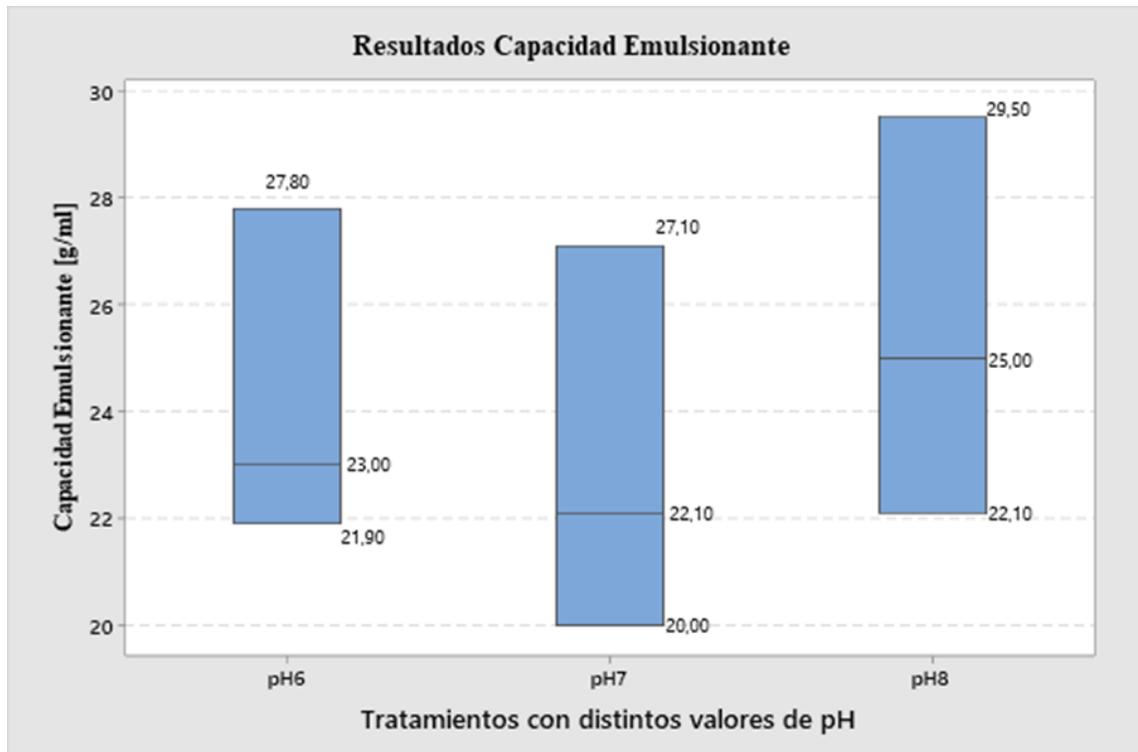
Muestras	Capacidad Emulsionante por muestra [g/mL]			Promedio y
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Capacidad emulsionante [g/mL]
pH8	29.50	27.10	27.80	28.13
pH7	25.00	22.10	23.00	23.37
pH6	22.10	20.00	21.90	21.33

Fuente: Autor

Después de obtener y recopilar los resultados procedemos a hacer un gráfico estadístico descriptivo donde se pueden observar los valores de forma más simplificada, como se presenta a continuación:

Figura 8

Valores de [CE] obtenidos para los tres extractos obtenidos de la harina de arveja *Pisum sativum* L.



Fuente: Autor

Como se puede observar en la gráfica 6, en la cual se elaboró una comparativa de los resultados obtenidos para los tres tratamientos realizados, en el cual se observa que la muestra evaluada a pH 8 arrojó el mejor resultado dando un valor mayor promedio de 29,50%. Entre las muestras restantes de pH 7 y pH 6 se determinó que no existe una diferencia significativa entre ellas, obteniendo resultados de 23,37 y 21,33 % respectivamente. Entre las muestras analizadas, la que tuvo menor capacidad emulsionante corresponde a la de pH 6. Es así, que podemos comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Hayati *et al.*, (2019), en el cual, los resultados que obtuvo para la capacidad emulsionante [CE] fueron mayores para las muestras evaluadas a pH 8, logrando obtener un porcentaje de 36,73% aplicando los mismos métodos de precipitación

isoeléctrica y análisis Kjeldahl, alcanzando de esta forma un porcentaje 8% mayor a lo establecido en el presente estudio.

En conclusión, el pH puede influir sobre la capacidad emulsionante, cuando el pH se acerca al punto isoeléctrico la solubilidad disminuye, por ende, la capacidad emulsionante disminuye. Se demostró de esta manera que la muestra evaluada a pH 8 obtuvo el mejor resultado por el mismo hecho de acercarse al punto de solubilidad para proteínas [pH8], mientras que las demás muestras evaluadas, la capacidad emulsionante disminuye porque el pH al que fueron tratadas se acercan al punto isoeléctrico.

4.5. PROCESO DE DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ACTIVIDAD EMULSIONANTE (IAE) DEL EXTRACTO PROTEICO DE LA HARINA DE ARVEJA

Para la realización de este análisis se cumplió con la metodología planteada por Pearce y Kinsella (1978). Este proceso consistió en diluir los concentrados proteicos obtenidos en agua *Milli-Q* para luego modificar su pH, realizar emulsiones y medir la absorbancia con la ayuda de un espectrofotómetro UV-Visible *Genesys20. ThermoSpectronic*. Los resultados se observan en la siguiente tabla.

Tabla 10

Resultados del proceso de determinación del índice de actividad emulsionante

Muestra	Absorbancia 500 nm (A₀)			Promedio	IAE
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3		
pH8	0.468	0.422	0.487	0.447	311.31
pH7	0.191	0.202	0.188	0.194	134.98
pH6	0.290	0.268	0.303	0.287	200.03

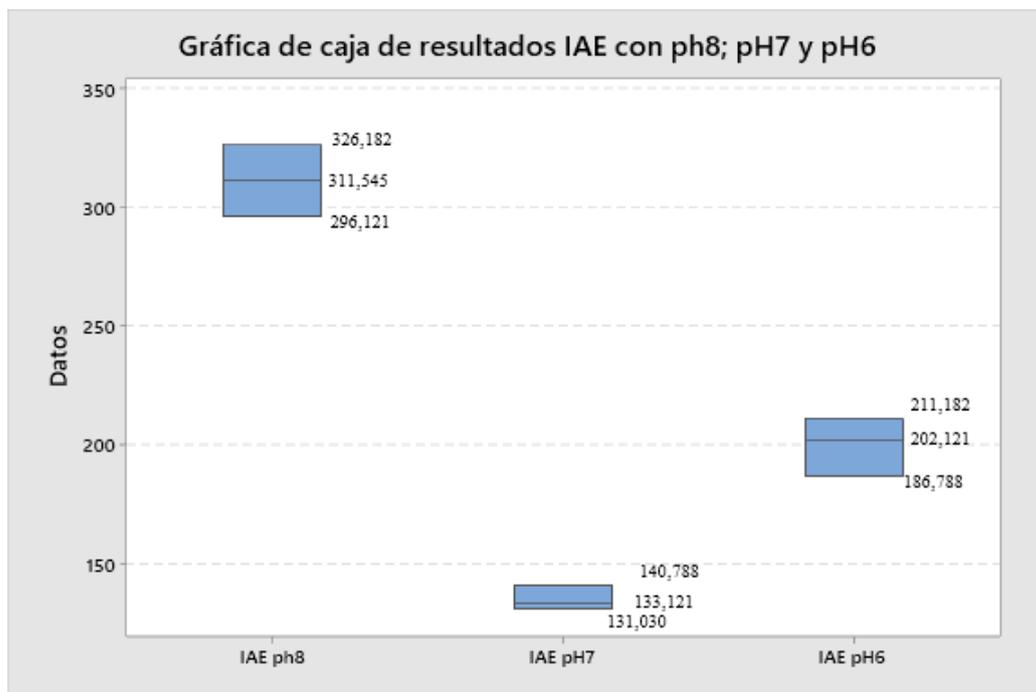
Nota: IAE y absorbancias obtenidas para las tres muestras fueron realizadas por triplicado.

Fuente: Autor.

Después de realizar la tabulación de datos se continuó con el análisis estadístico descriptivo a través de gráficas de cajas realizadas mediante el *software Minitab19*.

Figura 9

Gráfico estadístico que revela los resultados obtenidos para [IAE] de los extractos proteicos de harina de arveja (*Pisum sativum L.*)



Fuente: Autor

La solubilidad se ve afectada por factores como el pH, temperatura, fuerza iónica, entre otras, por lo que la variación de una de estas condiciones promueve cambios en las interacciones tanto electrostáticas como hidrofóbicas dentro de las estructuras proteicas afectando así a las propiedades funcionales.

Tras la elaboración de este análisis se determinó que la muestra evaluada con pH8 es la muestra que presenta un mayor IAE, con un valor de 311,31 m² de interface estabilizada por gramo de proteína [m²/g]. Esto puede deberse de forma directa al pH con el que fue evaluado, ya que no fue usado un reactivo que disminuyera el pH haciendo que no exista una precipitación

de proteínas, también puede deberse a la composición de aminoácidos de igual forma, a los péptidos que componen las fracciones proteicas. Tras esto y realizando una comparación con el estudio realizado por Barac *et al.*, (2010) donde obtuvo valores mayores de IAE para muestras evaluadas con pH 8 entre $93,92 \pm 1,3 \text{ m}^2/\text{g}$ y $291,94 \pm 2,4 \text{ m}^2/\text{g}$. De la misma forma para el estudio realizado por Hayati *et al.*, (2019), en el cual obtuvo un valor menor de IAE de 35.63 ± 0.18 .

Es así, que el concentrado proteico evaluado a pH 8 es un mejor agente emulsificante, debido a que la emulsión formada presentó un menor tamaño de partícula, esta propiedad está ligada principalmente al pH de solubilidad con el que fue tratado.

4.6. PROCESO DE DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD EMULSIONANTE (IEE) DEL EXTRACTO PROTEICO DE LA HARINA DE ARVEJA

Se obtuvo el IAE tras la aplicación del método de Pearce y Kinsella (1978). Para este análisis se dejó reposar la emulsión generada para IAE por 10 minutos para posteriormente tomamos una muestra de 30 μL del fondo del recipiente, a esta alícuota se le agregó 3mL de SDS al 0.1% [p/v] y se procedió a medir la absorbancia a 500nm en un espectrofotómetro UV-Visible, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 11

Valores de absorbancia obtenidos para [IEE] a partir de las muestras de los extractos proteicos obtenidos de la harina de arveja [Pisum sativum L.]

Muestra	Absorbancia 500 nm (A₁₀)			Promedio	IEE (min)
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3		
pH8	0,325	0,338	0,324	0,329	37,96
pH7	0,171	0,183	0,169	0,174	100,172
pH6	0,218	0,201	0,222	0,214	39,136

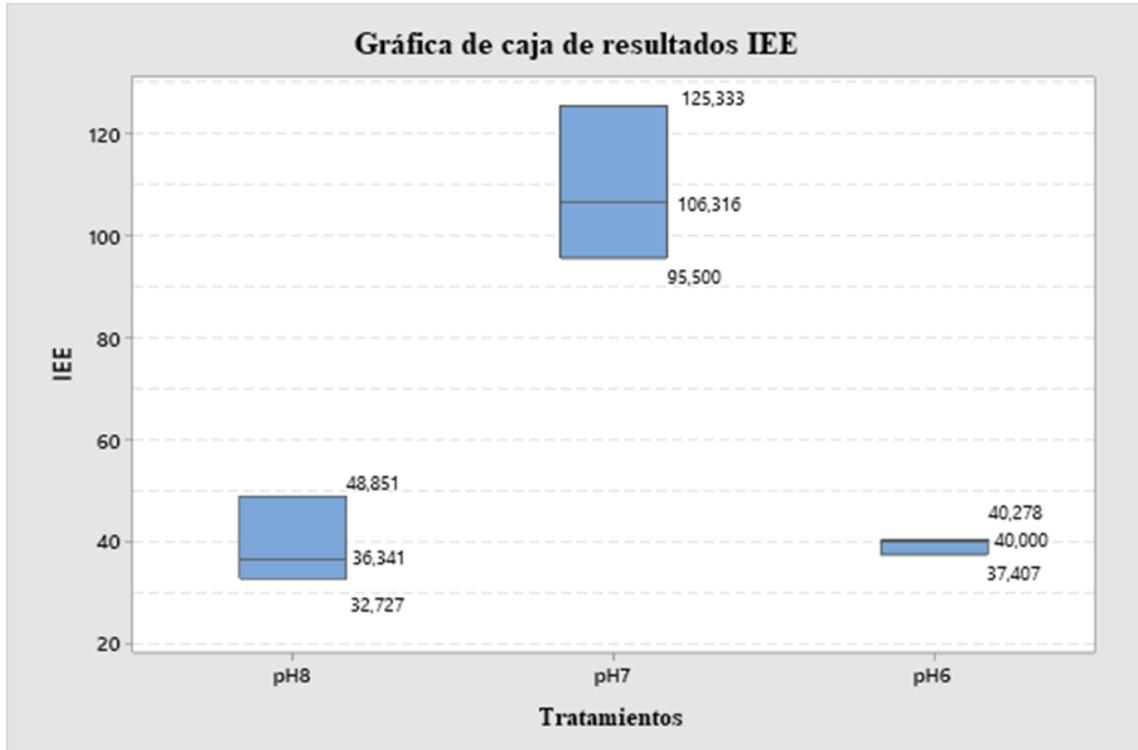
Fuente: Autor

Con estos resultados se determinó que, la muestra con mayor IEE pertenece al pH 7, presentando un valor de 100,17 min. Un valor muy alto comparado con las demás muestras. Entre las muestras evaluadas con pH 8 y pH 6 no existe una diferencia significativa obteniendo un resultado de 37,96 min. y 39,13 min. respectivamente.

Eso puede deberse a que las proteínas/péptidos afectadas por el pH son capaces de crear ajustes mejores en su composición de aminoácidos en la interfase aceite/agua por lo que genera una emulsión más estable (Liu *et al.*, 2013). Es así que en el presente estudio obtuvimos un porcentaje de estabilidad mayor para todas las muestras estudiadas, comparadas a las obtenidas por Hayati *et al.*, (2019), en donde obtuvo menores relativamente menores de 18.03 ± 0.22 cuando aplicó el mismo método de precipitación isoelectrica. Por el contrario, para el estudio realizado por Barac *et al.*, (2010) en el cual obtuvo un valor de estabilidad mucho mayor comparado con el presente estudio, logrando resultados promedio para pH 8 de: $(550 \pm 2,20$ min), mientras que para el extracto evaluado a pH 7 obtuvo valores menores de aproximadamente 90 min.

Figura 10

Gráfico de cajas que muestra los resultados para absorbancias obtenidas para IEE



Fuente: Autor

Tras la obtención de los resultados, se examinaron los valores obtenidos para la estabilidad emulsionante. Uno de los tres tratamientos correspondiente al pH 7 tenía una estabilidad emulsionante alta en las condiciones probadas, lo que indica que las gotas de aceite formadas en la emulsión se dispersaron con éxito por toda la fase acuosa debido a la fuerza adecuada de la película viscoelástica en la interfaz, así como a la suficiente repulsión de carga y/o impedimento estérico entre las gotas para evitar la coalescencia de las gotas.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Una vez terminado el procedimiento, práctico, experimental y teórico y tras analizar los resultados se obtuvo las siguientes conclusiones:

Se realizó la obtención del extracto proteico de la harina de arveja [*Pisum sativum* L.] a diferentes valores de pH, determinando así que el mejor tratamiento fue para la muestra tratada con pH 6 con el que se obtuvo el mayor rendimiento proteico, con un valor de: 24,13%.

Se cuantificó el contenido proteico del extracto obtenido de harina de arveja [*Pisum sativum* L.] mediante el método Kjeldahl, utilizando la muestra regulada a pH 6 se logró el mayor rendimiento, dando un resultado de 13,647% como el más óptimo.

Se evaluaron las propiedades funcionales de los concentrados proteicos de la harina de arveja [*Pisum sativum* L.] se evaluó la capacidad emulsionante mediante el método establecido por Yasumatsu en 1972. Mediante la aplicación de este proceso se concluyó que la muestra evaluada con pH 8 de solubilidad fue con el que se obtuvo un mejor rendimiento al momento de formar una emulsión, con un valor promedio de tres réplicas de 28,13%.

Se determinaron otras propiedades funcionales como el índice de actividad emulsionante [IAE] y el índice de estabilidad emulsionante [IEE], ambos parámetros fueron evaluados mediante el método descrito por Pearce y Kinsella en 1978. Método por el cual se pudo determinar para IAE un valor promedio mayor de 311,31 m²/g para la muestra evaluada a pH 8, mientras que para IEE se obtuvo un valor promedio mayor de 100,72 min. para el extracto proteico evaluado a pH 7.

Luego de realizado el presente trabajo investigativo se comprobó que el extracto proteico de la harina de arveja [*Pisum sativum* L.] presentó actividad y estabilidad emulsionante a diferentes valores de pH por lo que puede ser considerado como un aditivo dentro la industria alimenticia.

En conclusión, las proteínas vegetales pueden ser usadas como ingredientes o aditivos emulsionantes en la industria alimenticia, siempre y cuando posean una alta solubilidad y estabilidad. Es por eso que la solubilidad obtenida a pH 7 resultó en que las emulsiones hayan tenido una mayor estabilidad que los demás tratamientos ya que la proteína debe encontrarse soluble para lograr migrar a la interfase y ubicarse en ella manteniendo las características de la emulsión, evitando así que las fases se separen.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar ensayos con diferentes procesos de extracción de concentrados proteicos, para comparar o verificar la variabilidad en cuanto a los resultados establecidos en el presente estudio, ya que, mediante el método aplicado para la presente investigación, precipitación isoeléctrica, no reflejó buenos resultados en cuanto a rendimientos proteicos obtenidos.

Se sugiere también realizar ensayos con valores diferentes de pH, valores de solubilización, precipitación y otros factores que pudiesen afectar el rendimiento, tales como la temperatura, tiempo, entre otros, con la finalidad de verificar si efectivamente las proteínas de la harina de arveja se pueden precipitar de mejor forma con tratamientos diferentes.

Desarrollar nuevas investigaciones que involucren a diferentes especies de leguminosas, para aumentar la información en cuanto a nuevas fuentes naturales de aditivos para su uso en la industria alimentaria.

Se puede incorporar el concentrado proteico de la harina de arveja *Pisum sativum* L. como aditivo en la industria alimentaria ya que este estudio reveló que posee una buena actividad y estabilidad emulsionante.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Borbolla, M. (2019). *Concentración de suero de leche por congelación y determinación de sus propiedades fisicoquímicas*. [Tesis de grado, Universidad Veracruzana]. Archivo digital.
<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/50791/BorbollaPerezMarcos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cabezas, E., (2016). *Caracterización físico, química, sensorial y funcional de la proteína aislada de la arveja (Pisum sativum)*. [Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. Archivo digital.
<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/0ae4f322-5bff-4ca9-840a-010edeb6de6c/content>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] (2016). Legumbres. <https://www.fao.org/3/i5528s/i5528s.pdf>
- Encuesta Nacional Agropecuaria [ENA]. (2016). El cultivo de la arveja [*Pisum sativum*. L] durante la temporada de lluvias.
https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_nov_2016.pdf
- Exena-Cantú, J., Lu-Martinez, A., Bautista-Villarreal M., Báez-Gonzalez J., Gallardo, C., García-Alanís K., Duran-Lugo R. (2019). Determinación de la capacidad emulsionante de proteína extraída de almendra de *Prunus serotina* var. *capuli* para su aprovechamiento y valorización en la industria alimentaria. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*.
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/10/154.pdf>
- Fernández J., Guivar C. (2016). *Formulación de harina proteica y extruida a base de harina de: arveja (Pisum sativum), kiwicha (Amaranthus caudatus) y tarwi (Lupinus Mutabilis)* [Tesis de grado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Archivo digital.
https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8610/Fern%C3%A1ndez_Mej%C3%ADa_Jos%C3%A9_Luis_y_Guivar_Delgado_Cesar_L%C3%ADder.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Figuroa, S. y Mollinedo, O. (2017). *Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* “pitahaya” e identificación de los fitoconstituyentes*. [Tesis de pregrado, Universidad Wiener].
- Freire A. (2019). *Evaluación de un biofertilizante líquido a base de excretas de cerdo en la producción de arveja (*Pisum sativum* L.) var. *Quantum**. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Archivo digital. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30607/1/Tesis-243%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20648.pdf>
- García, V., Apéstegui, M., Muranyi, I., Eisner, P. y Schweiggert-Weisz, U. (2020). *Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 65. doi: 10.1016/j.ifset.2020.102449.
- De Almeida, G., K. Queiroz-Monici, S., Pissini, y A. De Oliveira. (2018). *Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes*. *Food Chem*, 94 (3), 327-330 <https://doi:10.1016/j.foodchem.2004.11.020>.
- Guevara S. (2016). *Elaboración y evaluación nutricional de cupcake a base de harina de arveja *Pisum sativum* y harina de trigo para fortalecer la dieta diaria*. [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo]. Archivo digital. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4947/1/56T00624%20UDCTFC.pdf>
- González M. (2020). *Métodos de análisis para la determinación de proteínas en cereales: amaranto y cebada*. [Tesis de maestría, Universidad de A Coruña]. Archivo digital. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/27174/GonzalezPerez_Maria%20Isabel_TFM_2020.pdf
- Hayati Zeidanloo, M., Ahmadzadeh Ghavidel, R., Ghiafeh Davoodi, M., & Arianfar, A. (2019). *Functional properties of Grass pea protein concentrates prepared using various precipitation methods*. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4799–4808. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03930-3>

- Integrated Taxonomic Information System. [ITIS]. (2011). *Taxonomy and nomenclature, Pisum sativum* L.
https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:P_0JbLxHF_kJ:https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt%3Fsearch_topic%3DTSN%26search_value%3D26867+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec#null
- Lam, A. C. Y., Warkentin, T. D., Tyler, R. T., & Nickerson, M. T. (2017). *Physicochemical and functional properties of protein isolates obtained from several pea cultivars. Cereal Chemistry*, 94, 89–97. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0097-FI>
- Lanza G., Churión, P., Gómez, C. (2016). Comparación entre el método kjeldahl tradicional y el método dumas automatizado (*n cube*) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*. 28(2), 3-9.
- Liu Y, Li X, Chen Z, Yu J, Wang F, Wang J. 2013. *Characterization of structural and functional properties of fish protein hydrolysates from surimi processing by-products. Food Chemistry*. 151:459–465. eng. doi:10.1016/j.foodchem.2013.11.089
- Llerena A. (2019). Extracción de grasas, cuantificación de proteínas y determinación de aminoácidos en harina de semilla de “Haba tigre” (Vicia faba). 10.13140/RG.2.2.35541.14562.
- Luque M, (s.f.). Estructura y propiedades de las proteínas. https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf
- Maharjan, P., Penny, J., Partington, D. L., & Panozzo, J. F. (2019). *Genotype and environment effects on the chemical composition and rheological properties of field peas. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 5409–5416. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9801>

- Merino, S., (2015). *Duración de las etapas fenológicas y profundidad radicular en cultivo de arveja (Pisum Sativum L.)*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica De Ambato]. Archivo digital. <https://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/18313/1/Tesis-113%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20368.pdf>
- Quimís, K., Salazar, M., (2017). *Propuesta de nuevas aplicaciones culinarias del polvo de arveja (Pisum sativum)*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Archivo digital. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/22434/1/TESIS%20Gs.%20242%20-%20aplicaciones%20culinarias%20del%20polvo%20de%20arveja.pdf>
- Quispe, C. (2017). *Obtención de pectina de alto y bajo metoxilo de la cáscara de arveja [Pisum Sativum L], por el método de hidrólisis ácida* [tesis de grado, Universidad Nacional del Antiplano]. Repositorio Institucional UNA-PUNO. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/6487>
- Suquillo L., (2019). *Identificación morfológica de los hongos causantes de pudrición radicular en arveja (Pisum sativum) en el valle de Tumbaco*. [Tesis de pregrado, Universidad Central Del Ecuador]. Archivo digital. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17767/1/T-UCE-0004-CAG-069.pdf>
- Urbano G, Lopez-Jurado M, Frejnagel S, Gomez-Villalva E, Porres JM, Frias J, VidalValverde C, Aranda P. 2005. *Nutritional assessment of raw and germinated pea (Pisum sativum L.) Protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques*. *Nutrition*. 21(2):230–239. eng. doi:10.1016/j.nut.2004.04.025.
- Perez V, Felix M, Romero A, Guerrero A. (2016). *Characterization of pea protein-based bioplastics processed by injection moulding*. *Food and Bioproducts Processing*. 97:100– 108. doi: 10.1016/j.fbp.2015.12.004.
- Plúas, L., Valdiviezo E. (2017). *Obtención de concentrado proteico a partir de Pisum sativum L. como sustancia enriquecedora de productos panificados*. [Tesis de pregrado, Universidad De Guayaquil]. Archivo digital. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20397/1/Tesis-Completa-Pl%c3%baas-Valdiviezo-3.pdf>

- Stone, A. K., Karalash A., Tyler R. T., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). *Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars*. *Food Research International*, 76, 31–38.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11>
- Terán, L. (2018). *Caracterización físico químico de la harina de arveja (Pisum Sativum) para su uso en panificación* [Tesis de Posgrado, Universidad de Guayaquil] Repositorio Universidad de Guayaquil.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/36083/1/TESIS%20Gs.%20344%20-%20Caracteriz%20fisico%20quimico%20de%20harina%20de%20arveja.pdf>
- Atiencia C. (2021). *Obtención de concentrado proteico a partir de Pisum sativum como sustancia enriquecedora de productos panificado* [Tesis de Maestría, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Universidad de Guayaquil.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/57537/1/BINGQ-MAPA-21M01.pdf>
- Vallejos Y. (2018). *Obtención de concentrados proteicos de la harina de arveja (Pisum sativum) y determinación de su actividad antioxidante por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA)*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato] Repositorio Universidad Técnica de Ambato.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27136/1/AL%20657.pdf>

7. ANEXOS

7.1. ANEXO 1: TABLA DE ABREVIATURAS

Ha	Hipótesis alternativa
Ho	Hipótesis nula
nm	Nanómetros
g	Gramos
p/v	peso/volumen
mL	Mililitros
O/W	Aceite/agua
W/O	Agua/aceite
CE	Capacidad emulsionante
IAE	Índice Actividad Emulsionante
IEE	Índice Estabilidad Emulsionante
SDS	Solución de sulfato de dodecilo sódico
pH	Potencial Hidrógeno
A ₀	Absorbancia minuto cero
ΔA	Variación absorbancia
Φ	Fracción másica
UV-Vis	Luz ultravioleta visible
°C	Grados centígrados

ANEXO 2: PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO

Figura 11

Pesaje de la materia prima



Nota: Fotografía tomada durante el proceso, en los laboratorios de “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 12

Regulación de pH de muestras



Fuente: Autor

Figura 13

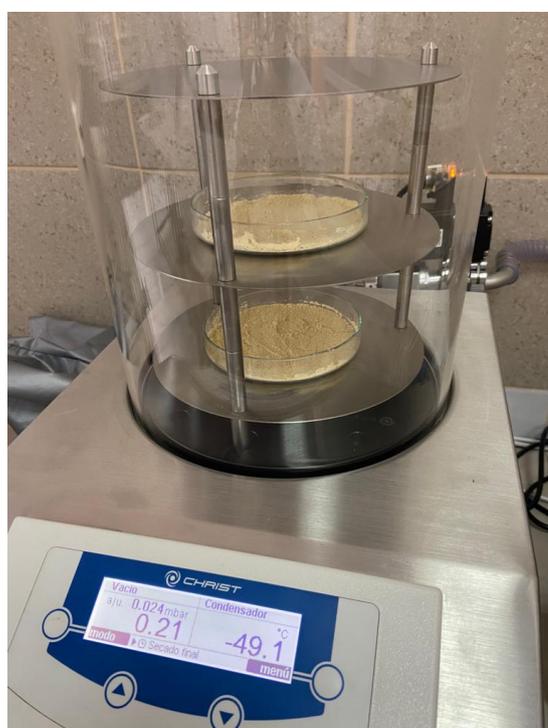
Centrifugado de muestras



Fuente: Autor

Figura 14

Obtención de extracto proteico liofilizado a través del equipo marca Alpha 1-2LDplus



Fuente: Autor

Figura 15

Pesado de extracto proteico de la harina de arveja



Fuente: Autor

ANEXO 3. DETERMINACIÓN CAPACIDAD EMULSIONANTE

Figura 16

Pesaje de muestras de extracto proteico



Fuente: Autor

Figura 17

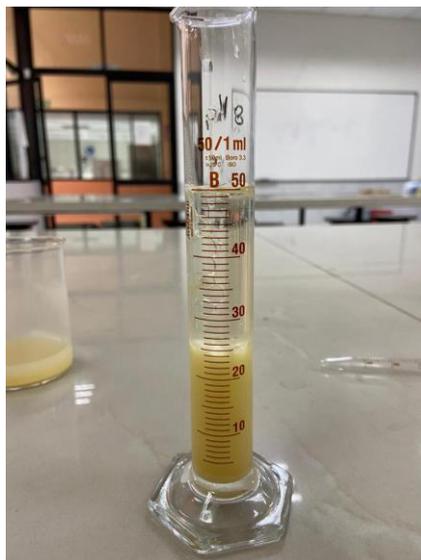
Modificación del pH de las muestras



Fuente: Autor

Figura 18

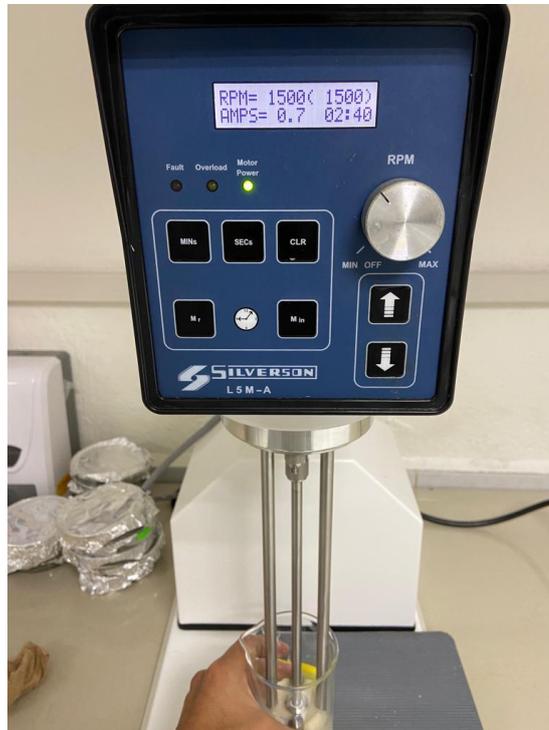
Medición de la solución formada por 25 mL de agua destilada y 25 mL de aceite de girasol comercial



Fuente: Autor

Figura 19

Formación de la emulsión a través de un mezclador de laboratorio marca Silverson.



Fuente: Autor

Figura 20

Emulsión formada antes de realizar centrifugación



Fuente: Autor

Figura 21

Volumen final obtenido de la muestra evaluada a pH: 8,0; 7,0; 6,0



Fuente: Autor

ANEXO 4: DETERMINACIÓN DE ÍNDICE DE ACTIVIDAD Y ESTABILIDAD EMULSIONANTE

Figura 22

Pesaje de muestras de extracto proteico con ayuda de equipo marca Mettler Toledo



Fuente: Autor

Figura 23

Modificación de pH de muestras mediante el uso del equipo marca Mettler Toledo



Fuente: Autor

Figura 24

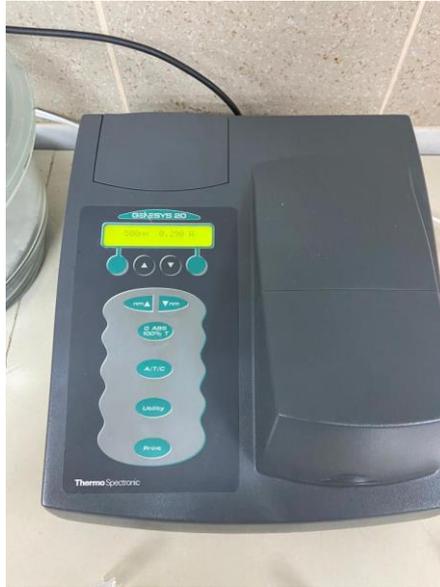
Formación de la emulsión, usando la mezcladora de laboratorio marca Silverson.



Fuente: Autor

Figura 25

Medición de la absorbancia para todas las muestras establecidas a través del espectrofotómetro UV-Vis Genesys 20



Fuente: Autor

Anexo 5 Resultados análisis Kjeldahl en MSV Laboratorio, análisis de alimentos, suelos y aguas

Figura 26

Resultado obtenido del análisis Kjeldahl realizado para pH 8 en el laboratorio MSV de la ciudad de Cuenca

INFORME DE RESULTADOS

Informe: MSV-IE-1111-22
Orden de ingreso: OI-507-22
Cuenca, 10 de Junio del 2022

DATOS DEL CLIENTE

Cliente: DANIEL REYES GRANDA
Dirección: ELIA LIUT Y CALLE VIEJA
Teléfono: 0980206446

DATOS DE LA MUESTRA

² NOMBRE DE LA MUESTRA: EXTRACTO PROTEICO DE PROTEINA VEGETAL PH 8			
² MARCA COMERCIAL: NA		² FABRICANTE: DANIEL REYES	
PROCEDENCIA: CUENCA	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	² TIPO DE ENVASE: FUNDA ZIPLOC	
² PRESENTACIONES: 42		² FORMA DE CONSERVACION: AMBIENTE FRESCO Y SECO	
CODIGO MUESTRA: OI50722	² LOTE:	² FECHA ELAB: 2022-05-27	² FECHA CAD:
FECHA RECEPCION: 2022-05-30	FECHA ANALISIS: 2022-05-30 - 2022-06-10	FECHA ENTREGA: 2022-06-10	
ENSAYO EN: LABORATORIO	MUESTREO: CLIENTE	NUMERO DE MUESTRAS: UNO (1)	

ENSAYOS ANÁLISIS FISICO-QUIMICOS

PARÁMETRO	MÉTODO - TÉCNICA	UNIDAD	RESULTADO
*PROTEINA	AOAC 991.20 - VOLUMETRIA	%	10.128

*Fuera del alcance de la acreditación. **Subcontratado acreditado. ***Subcontratado no acreditado. U:INCERTIDUMBRE.



Dra. Sandra Guaraca
GERENTE DE LABORATORIO



Cualquier información adicional correspondientes a los ensayos que requiera el cliente, están a disposición. Los datos e información de las muestras (tal como se reciben) y de los clientes, que puedan afectar la validez de los resultados han sido proporcionados por el cliente y son de su exclusiva responsabilidad. El Laboratorio no será responsable de los desvíos encontrados en los ítems de ensayo entregados por los clientes que puedan afectar a los resultados, que al ser detectados serán comunicados al cliente.

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. ¹Opciones e interpretaciones están fuera del alcance del SAE. ²Información proporcionada por el cliente, MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: *Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia; *Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo < 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema)

Fuente: MSV Laboratorio, análisis de alimentos, suelos y aguas.

Figura 27

Resultado obtenido del análisis Kjeldahl realizado para pH 7 en el laboratorio MSV de la ciudad de Cuenca.



INFORME DE RESULTADOS

Informe: MSV-IE-1110-22
Orden de ingreso: OI-506-22
Cuenca, 10 de Junio del 2022

DATOS DEL CLIENTE

Cliente: DANIEL REYES GRANDA
Dirección: ELIA LIUT Y CALLE VIEJA
Teléfono: 0980206446

DATOS DE LA MUESTRA

¹ NOMBRE DE LA MUESTRA: EXTRACTO PROTEICO DE PROTEINA VEGETAL PH 7			
² MARCA COMERCIAL: NA		² FABRICANTE: DANIEL REYES	
PROCEDENCIA: CUENCA	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	² TIPO DE ENVASE: FUNDA ZIPLOC	
² PRESENTACIONES: 43		² FORMA DE CONSERVACION: AMBIENTE FRESCO Y SECO	
CODIGO MUESTRA: OI50622	² LOTE: na	² FECHA ELAB: 2022-05-27	² FECHA CAD:
FECHA RECEPCION: 2022-05-30	FECHA ANALISIS: 2022-05-30 - 2022-06-10	FECHA ENTREGA: 2022-06-10	
ENSAYO EN: LABORATORIO	MUESTREO: CLIENTE	NUMERO DE MUESTRAS: UNO (1)	

ENSAYOS ANÁLISIS FISICO-QUIMICOS

PARÁMETRO	MÉTODO - TÉCNICA	UNIDAD	RESULTADO
*PROTEINA	AOAC 991.20 - VOLUMETRIA	%	9.913

*Fuera del alcance de la acreditación. **Subcontratado acreditado. ***Subcontratado no acreditado. U:INCERTIDUMBRE.

Dra. Sandra Guaraca
GERENTE DE LABORATORIO



Cualquier información adicional correspondientes a los ensayos que requiera el cliente, están a disposición. Los datos e información de las muestras (tal como se reciben) y de los clientes, que puedan afectar la validez de los resultados han sido proporcionados por el cliente y son de su exclusiva responsabilidad. El Laboratorio no será responsable de los desvíos encontrados en los ítems de ensayo entregados por los clientes que puedan afectar a los resultados, que al ser detectados serán comunicados al cliente.

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. ¹Opciones e interpretaciones están fuera del alcance del SAE. ²Información proporcionada por el cliente, MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: *Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia, *Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo < 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE., MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema)

Figura 28

Resultado obtenido del análisis Kjeldahl realizado para pH 6 en el laboratorio MSV de la ciudad de Cuenca.



INFORME DE RESULTADOS

Informe: MSV-IE-1109-22
Orden de ingreso: OI-505-22
Cuenca, 10 de Junio del 2022

DATOS DEL CLIENTE

Cliente: DANIEL REYES GRANDA
Dirección: ELIA LIUT Y CALLE VIEJA
Teléfono: 0980206446

DATOS DE LA MUESTRA

¹NOMBRE DE LA MUESTRA: EXTRACTO PROTEICO DE PROTEINA VEGETAL PH 6			
²MARCA COMERCIAL: NA		²FABRICANTE: DANIEL REYES	
PROCEDENCIA: CUENCA	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	²TIPO DE ENVASE: FUNDA ZIPLOC	
²PRESENTACIONES: 51		²FORMA DE CONSERVACION: AMBIENTE FRESCO Y SECO	
CODIGO MUESTRA: OI50522	²LOTE: na	²FECHA ELAB: 2022-05-27	²FECHA CAD:
FECHA RECEPCION: 2022-05-30	FECHA ANALISIS: 2022-05-30 - 2022-06-10	FECHA ENTREGA: 2022-06-10	
ENSAYO EN: LABORATORIO	MUESTREO: CLIENTE	NUMERO DE MUESTRAS: UNO (1)	

ENSAYOS ANÁLISIS FISICO-QUIMICOS

PARÁMETRO	MÉTODO - TÉCNICA	UNIDAD	RESULTADO
*PROTEINA	AOAC 991.20 - VOLUMETRIA	%	13.647

*Fuera del alcance de la acreditación. **Subcontratado acreditado. ***Subcontratado no acreditado. U:INCERTIDUMBRE.

Dra. Sandra Guaraca
GERENTE DE LABORATORIO



Cualquier información adicional correspondientes a los ensayos que requiera el cliente, están a disposición. Los datos e información de las muestras (tal como se reciben) y de los clientes, que puedan afectar la validez de los resultados han sido proporcionados por el cliente y son de su exclusiva responsabilidad. El Laboratorio no será responsable de los desvíos encontrados en los ítems de ensayo entregados por los clientes que puedan afectar a los resultados, que al ser detectados serán comunicados al cliente.

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. ¹Opciones e interpretaciones están fuera del alcance del SAE. ²Información proporcionada por el cliente, MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: *Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia, *Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo < 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE., MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema)