UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA
(Creada por Ley N° 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

"EFECTO DEL PH DE SOLUBILIZACIÓN EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA AISLADA DE SEMILLA DE NABO SILVESTRE (*Brassica rapa L.*)"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTADO POR:

Bach. Margarita ORTEGA RODRIGO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

HUANCAVELICA, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA
(Creada por ley N. 25265)
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN O APROBACIÓN DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACIÓN

En la Ciudad Universitaria de "Común Era" de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 03 días del mes de diciembre del año 2019, a horas 03:00 p.m; se reunieron los miembros de jurado calificador, que está conformado de la siguiente manera:

PRESIDENTE : Mtro. Alfonso, RUÍZ RODRIGUEZ

SECRETARIO : Mtro. Gustavo Adolfo, ESPINOZA CALDERON

VOCAL : M.Sc. Gina DE LA CRUZ CALDERON

ACCESITARIO : Mtro. Franklin ORE ARECHE

Designados con la resolución N°257-2019-D-FCA-UNH, del: proyecto de investigación titulado: **"EFECTO DEL pH DE SOLUBILIZACIÓN EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PROTEÍNA AISLADA DE SEMILLA DE NABO SILVESTRE *(Brassica rapa L.)*"**

Cuyo autor el graduado:

BACHILLER : Margarita, ORTEGA RODRIGO
Asesorado por: **M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILÍN GOICOCHEA.**

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación antes citado.

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado:

APROBADO ☐ POR ..MAYORÍA.....

DESAPROBADO ☐

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

Mtro. Gustavo Adolfo ESPINOZA CALDERON
SECRETARIO

Mtro. Alfonso RUIZ RODRIGUEZ
PRESIDENTE

Mtro. Franklin ORE ARECHE
ACCESITARIO

Autor

Bach. Margarita ORTEGA RODRIGO

Asesor

M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILÍN GOICOCHEA

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación científica está dedicado a Dios y a mis padres: Eugenio Ortega Carrasco y Domitila Rodrigo Gonzáles eso son mis padres y mis hijos es Andrea y Alex y mi esposo.

ÍNDICE

RESUMEN xi
ABSTRACT xii
INTRODUCCIÓN xiii
CAPÍTULO I 1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 1
1.1. Descripción del problema 1
1.2. Formulación del problema 2
1.3. Objetivos 2
1.3.1. Objetivo General 2
1.3.2. Objetivos Específicos 2
1.4. Justificación 2
1.5. Limitaciones 3
CAPÍTULO II 4
MARCO TEÓRICO 4
2.1. Antecedentes 4
2.2. Bases teóricas sobre el tema de investigacion 7
2.2.1. Nabo silvestre 7
2.2.2. Composición química de la semilla 8
2.3. Bases conceptuales 9
2.3.1. Aislados proteicos 9
2.3.2. Usos y aplicaciones de los aislados proteicos 9
2.4. Definición de términos básicos 10
2.5. Hipótesis 10
2.6. Variables 11
2.7. Operacionalizacion de variables 11
CAPÍTULO III 13
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN 13
3.1. Ambito temporal y espacial 13
3.2. Tipo de Investigación 13
3.3. Nivel de Investigación 13
3.4. Población y Muestra 13

3.4.1. Población 13
3.4.2. Muestra 13
3.4.3. Muestreo 14
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos 14
3.5.1. metodos de investigacion 14
3.5.2. Diseño de investigacion 14
3.5.3. Procedimiento de obtención de proteína aislada de semilla de nabo silvestre 14
3.5.4. Rendimiento 17
3.5.5. Determinación de las propiedades funcionales de la proteína aislada de semilla de nabo silvestre 17
3.6. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos 20
CAPÍTULO IV 21
RESULTADOS 21
4.1. Presentación de datos 21
4.1.1. Rendimiento de proteína aislada de semilla de nabo silvestre 21
4.1.2. La densidad aparente y la densidad compactada 22
4.1.3. Índice de Carr (fluidez) y ratio de Hausner (cohesión) 23
4.1.4. Índice de solubilidad en agua (ISA) e Índice de absorción de agua (IAA) 24
4.1.5. Capacidad de retención de aceite (CRA) 26
4.1.6. Capacidad de formación de espuma (CFE) 27
4.1.7. Capacidad de gelificación (CG) 28
4.1.8. Capacidad emulsificante (CE) 29
4.1.9. Composición química proximal de la semilla de nabo silvestre y de su proteína aislada 30
4.2. Discusión de resultados 30
CONCLUSIONES 39
RECOMENDACIONES 40
REFERENCIAS 41
APENDICE 46

Índice de tablas

Tabla 1. Operacionalizacion de variables 11

Tabla 2. Diseño completo al azar 14

Tabla 3. Rendimiento de proteína aislada a diferente pH de extracción 21

Tabla 4. Análisis de varianza del rendimiento de proteína aislada 21

Tabla 5. Densidad aparente y compacta a diferente pH de extracción 22

Tabla 6. Análisis de varianza de la densidad aparente y compacta 23

Tabla 7. Índice de Carr a diferente pH de extracción. 23

Tabla 8. Ratio de Hausner a diferente pH de extracción 23

Tabla 9. Índice de solubilidad en agua a diferente pH de extracción. 24

Tabla 10. Análisis de varianza del índice de solubilidad en agua 24

Tabla 11. índice de absorción de agua a diferente pH de extracción 25

Tabla 12. Análisis de varianza del índice de absorción de agua 25

Tabla 13. Capacidad de retención de aceite a diferente pH de extracción 26

Tabla 14. Análisis de varianza de la capacidad de retención de aceite 26

Tabla 15. Capacidad de formación de espuma a diferentes pH de extracción 27

Tabla 16. Análisis de varianza de la capacidad de formación de espuma 27

Tabla 17. Análisis de varianza de la capacidad de gelificación 28

Tabla 18. Capacidad emulsificante de proteína aislada de nabo 29

Tabla 19. Análisis de varianza de la capacidad emulsificante 29

Tabla 20. Composición química proximal de la semilla de nabo silvestre 30

Índice de figura

Figura 1. Nabo silvestre y semilla de nabo silvestre 7

Figura 2. Diagrama de flujo de obtención de proteína aislada de nabo silvestre 16

Figura 3. Variación del rendimiento con el pH de extracción 21

Figura 4. Variación de densidad aparente **y** densidad compacta con pH 22

Figura 5. Índice de solubilidad de agua a diferente pH de extracción 24

Figura 6. Índice de absorción de agua a diferente pH de extracción 25

Figura 7. Capacidad de retención de aceite a diferente pH de extracción 26

Figura 8. Capacidad de formación de espuma a diferente pH de extracción 27

Figura 9. Capacidad gelificación de proteína aislada de nabo 28

Figura 10. Capacidad emulsificante de proteína aislada de nabo 29

Índice de fotografías

Fotografía 1. Pesado de la torta de semilla de nabo 50

Fotografía 2. Precipitación alcalina de la proteína de la semilla de nabo 51

Fotografía 3. Obtención de la proteína aislada de la semilla de nabo 52

Fotografia 4. Centrifugación para la obtención de la proteína aislada 52

Fotografía 5. Proteína aislada de la semilla de nabo – Obtención final 53

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de semilla de nabo silvestre (*Brassica rapa* L.). Se utilizaron pH de 7, 8, 9 y 10 para solubilizar las proteínas de la torta desengrasada de nabo silvestre, luego de haber extraído el aceite de la semilla. El método fue simple y de bajo costo, y la proteína aislada fue precipitada a pH 4,5 y luego sometidos a pruebas para determinar sus propiedades funcionales. El pH de solubilización tuvo un efecto altamente significativo ($p < 0,05$) en el rendimiento de la proteína aislada, alcanzándose el máximo rendimiento a pH 8 de 66,875%. El pH de solubilización tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) en las propiedades funcionales de la proteína aislada: densidad aparente, densidad compacta, índice de solubilidad en agua, índice de absorción de agua, capacidad de formación de espuma y capacidad emulsificante. Mas no tuvo efecto significativo ($p > 0,05$) en la capacidad de retención de aceite. La proteína aislada extraída a pH 7 presentó los más altos índice de Carr y ratio de Hausner; a pH 8 el mayor rendimiento, el mayor índice de solubilidad en agua; a pH 9 la mayor densidad aparente y compacta, el mayor índice de absorción de agua, la menor capacidad de retención de aceite y la mayor capacidad emulsificante; y a pH 10 la mayor capacidad de retención de aceite y de formación de espuma. Finalmente se recomienda utilizar el pH 9, ya que las propiedades funcionales fueron mejores para aplicaciones tecnológicas posteriores.

Palabras clave: Solubilidad, proteína aislada, pH, funcional, *Brassica rapa L.*

ABSTRACT

In the present work of investigation, the effect of the pH of solubilization on the functional properties of the protein isolated of *Brassica sp*. Was evaluated. PH of 7, 8, 9 and 10 were used to solubilize the proteins of the degreased cake of wild turnip, after having extracted the oil from the seed. The method was simple and inexpensive, and the protein isolates were precipitated at pH 4.5 and then subjected to tests to determine their functional properties. The pH of solubilization had a highly significant effect ($p < 0.05$) on the yield of the protein isolated reaching the maximum yield at pH 8 of 66.875%. The pH of solubilization had a significant effect ($p < 0.05$) on the functional properties of the protein isolated: Bulk density, compact density, water solubility index, water absorption index, foaming capacity and emulsifying capacity. However, it had no significant effect ($p > 0.05$) on the oil retention capacity. The protein isolated extracted at pH 7 presented the highest Carr index and Hausner ratio; at pH 8 the highest yield, the highest water solubility index; at pH 9 the highest apparent and compact density, the highest rate of water absorption, the lowest oil retention capacity and the highest emulsifying capacity; and at pH 10 the highest capacity for oil retention and foam formation. Finally, it is recommended to use pH 9, since the functional properties were better for later technological applications.

Keywords: Solubility, protein isolated, pH, functional, *Brassica rapa L*.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son determinantes de gran importancia en el sabor de los alimentos, su textura y la aceptación de los consumidores. Por lo tanto, se utilizan como agentes emulsionantes, modificadores de textura y/o mejoradores de la absorción de agua/aceite en productos alimenticios (Ogunwolu, Henshaw, Mock, Santros, & Awonorin, 2009).

La incorporación de proteínas en los productos alimenticios depende en gran medida de las propiedades funcionales de las proteínas, como la capacidad de absorción de agua / aceite, la capacidad de formación de espuma y la emulsificación.

Sin embargo, las propiedades funcionales de las proteínas pueden variar entre las especies y están influenciadas por muchos factores. Las características fisicoquímicas, como el tamaño molecular, la carga neta, la composición y la estructura de los aminoácidos, son algunos de los factores que contribuyen a las propiedades funcionales de las proteínas. Cabe señalar que el método de extracción, el pH y la fuerza iónica tienen un efecto sobre las propiedades funcionales de las proteínas (Yu, Ahmedna, & Goktepe, 2007).

Es por ello, que se ha visto una fuente potencial de proteína en la semilla de nabo silvestre, a la cual se le estudiado sus propiedades funcionales, con la finalidad de lograr su aplicación en alimentos, básicamente para niños de 36 meses a 5 años, que necesitan aminoácidos esenciales que, según las referencias bibliográficas, las especies de brassicas son una fuente abundante.

El presente trabajo permitirá establecer la aplicación de la proteína aislada de semilla de nabo en el diseño de nuevos alimentos tales como: productos de panificación, helados, derivados lácteos, mezclas alimenticias, entre otros.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción del problema

Las proteínas vegetales aisladas podrían tener un alto valor como ingredientes funcionales, sin embargo, en la actualidad sólo las de soja son ampliamente utilizadas; la industria alimentaria se encuentra en la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado; fracciones proteicas derivadas de pastas de semillas de procesadoras de oleaginosas pueden poseer una buena calidad nutricional y características funcionales similares e incluso superiores a las de las proteínas de soja, pero no han sido estudiadas en detalle, las semillas de nabo silvestre son unas de estas. Las proteínas aisladas vegetales pueden ser obtenidos por solubilización alcalina seguidos de precipitación a punto isoeléctrico (PI). Esta metodología es la más empleada en parte, por la facilidad de su implementación y por los altos rendimientos obtenidos de proteína, además permite la fácil separación de sustancias no proteicas tales como azúcares, fibra, lípidos y otros componentes no deseables en el producto final, principalmente factores anti-nutricionales (FAN). En este trabajo se pretende contribuir al estudio del efecto del pH en la extracción y comportamiento funcional de la proteína aislada obtenida de semillas de nabo silvestre (*Brassica rapa* L.), así mismo aportar al escaso conocimiento que se tiene acerca de las características y potencialidades de las proteínas presentes en semillas silvestres andinas. Las propiedades funcionales afectan muchas de las características sensoriales de los alimentos o ingredientes durante su preparación, procesamiento y almacenamiento. Los beneficios funcionales incluyen la emulsificación, formación de espuma, gelificación, incremento de la viscosidad, sabor, textura y absorción de grasa y agua; varias formas de aditivos proteicos son adicionadas a los alimentos para incrementar sus características funcionales, nutricionales y económicas.

La proteína aislada desde fuentes no convencionales podría tener un alto valor como ingrediente funcional o en nutrición para fortificación de alimentos o en aplicaciones para cosméticos y farmacéuticos.

1.2. Formulación del problema

¿Existe efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica rapa L.*)?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.).

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del pH de solubilización en el rendimiento de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.).
- Determinar el efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.).

1.4. Justificación

La justificación teórica de la presente investigación se ampara en el desconocimiento del efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de la semilla de nabo silvestre (*Brassica rapa* L.) y así determinar el pH adecuado que permita obtener proteína aislada con buenas características funcionales.

Su valor práctico se encuentra en el hecho de poder aprovechar las semillas de nabo silvestre por un lado como fuente de aceite y por otro como una fuente de proteína para obtener aislados de excelentes propiedades funcionales, y pode aprovecharlos como insumos alimentarios y no alimentarios.

Una gran ventaja representa el hecho que el nabo silvestre se propaga como “mala hierba” y es muy rústico, lo que implicaría que su producción como

materia prima sería prácticamente orgánica; por lo tanto, se tendría un aislado proteico excelente.

1.5. Limitaciones

Se encontraron limitaciones como el tiempo y dedicación para la ejecución del proyecto por cuestiones de trabajo, la comunicación e informe con mi empleador fue importante para poder realizar de manera satisfactoria este trabajo.

No hubo más limitaciones, en consecuente, aquellos aspectos que no se reportan ni discuten están puestos en la sección de recomendaciones.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.Antecedentes

Se han encontrado investigaciones del entorno internacional, nacional y local, las mismas que a continuación se mencionan.

Se evaluó las propiedades funcionales de la harina y aislados proteicos de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis*). Los aislados proteicos fueron obtenidos de la harina desengrasada por solubilización alcalina a diferentes concentraciones de NaCl seguidas de precipitación isoeléctrica, con un contenido proteico cercano al 90 %. Se evaluaron las distintas propiedades funcionales como; capacidad de retención de agua (CRA), absorción de grasa (CRL), capacidad de hinchamiento (CH), densidad aparente (DA), actividades emulsificantes (IAE) en el rango de pH 2-10 y capacidad espumante (CE). El incremento de la concentración de NaCl contribuye a exponer más grupos hidrófilos en la superficie, lo que explica la alta CRA y baja CRL, las propiedades de emulsión fueron dependientes del pH y concentración de NaCl. Se observó una alta capacidad espumante y estabilidad de la espuma formada para los aislados obtenidos (Martínez; et al, 2011).

El ivestigador en este trabajo ha diseñado un proceso de obtención de aislados proteicos a partir de harina de colza desengrasada. El método incluye la extracción básica de las proteínas solubles seguida de una precipitación ácida en el punto isoeléctrico. El precipitado es lavado con agua (pH 4.5), etanol y acetona, obteniéndose un aislado proteico con un 86% de proteína y reduciéndose el contenido en polifenoles y azúcares solubles en más de un 90% respecto a la harina desengrasada. El aislado final presenta unas características físico-químicas que lo hacen atractivo para su uso en alimentación y obtención de hidrolizados proteicos (Gonçalves; et al. 1997).

Se determinó el efecto de las variables relación torta/solución extractora (1/5, 1/10 y 1/15), pH (9, 10 y 11) y tiempo de proceso (30, 60 y 90 minutos) sobre el rendimiento de extracción de las proteínas presentes en la torta desengrasada de piñón blanco, se realizaron ensayos a nivel laboratorio empleando un diseño factorial completo, siendo los resultados analizados usando metodología de superficie de respuesta. La torta utilizada, desengrasada por el método Soxhlet, fue suspendida en solución de hidróxido de sodio con la finalidad de extraer las proteínas. La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Biuret con lectura en espectrofotómetro a 545 nm. La proteína, precipitada con ácido clorhídrico fue lavada con agua destilada y finalmente secada. El secado del aislado proteico se llevó a cabo en estufa, a 80°C, durante 6 horas. Los resultados indicaron que los parámetros: relación torta/solución extractora de 1/5, pH 10 y tiempo de 30 minutos, fueron los más adecuados para alcanzar un buen rendimiento. Los análisis realizados a los aislados proteicos obtenidos, arrojaron resultados similares a los reportados en otros estudios para diferentes materias primas vegetales (Fasanando, 2012).

Se trabajo con la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), pseudocereales de la región de los Andes de Sudamérica, que tienen excepcional composición de aminoácidos. Considerando estos antecedentes este estudio tuvo el propósito de aislar y optimizar la extracción y precipitación de proteínas en el punto isoeléctrico en dos variedades de quinua cañihua, respectivamente. El aislado proteico fue obtenido con un pH promedio de extracción a pH 8,0 - 8,9 para proteger el material proteico de la oxidación, se añadió un antioxidante como el bisulfito de sodio al 0,1% p/p y precipitación de las proteínas a pH 4,5 a 5,3. El contenido de proteínas fue de 85.86; 83.60; 87.74; 82.68% para Quinua Itarina Kallutaca, Quinua Surumi Taraco, Cañihua Amarilla Kallutaca, Cañihua Beige Taraco respectivamente; con una humedad de 7.71; 8.11; 7.59; 8.10 respectivamente. La solubilidad del aislado proteico incrementó hasta 45º C y disminuyó cerca de 50º C observándose la desnaturalización de la proteína. La

solubilidad de las proteínas a pH 4,5 fue baja, siendo observada una alta solubilidad a pH diferente del punto isoeléctrico, lo que demostró que el método aplicado en la obtención y optimización del aislado proteico de quinua y cañihua, fue la indicada (Callisaya & Alvarado, 2009).

En el trabajo de investigación ”evaluación del potencial antioxidante y propiedades fisicoquímicas de películas elaboradas a partir de hidrolizados proteicos de canola (*Brassica napus* L.)” evaluó el potencial antioxidante, así como las propiedades fisicoquímicas de las películas obtenidas a partir de hidrolizados proteicos de canola (*Brassica napus* L.), en donde obtuvo aislados proteicos (APC) a partir de la harina desgrada de canola mediante la solubilización de proteínas con NaOH 6 N a pH 12 y precipitación con HCl 6 N a pH 5. La hidrólisis enzimática se llevó a cabo por el sistema Pepsina-Pancreatina, los tiempos de reacción fueron de 10 y 80 min usando como sustrato el aislado proteico a una concentración del 4% y una relación enzima/sustrato 1/100, a condiciones de temperatura de 37±0,2°C y pH de 2±0,2 para la enzima pepsina y pH 8 para la enzima pancreatina. La concentración de proteína en el APC de 80,3±0,11%. Los grados de hidrólisis obtenidos a los 10 y 80 min fueron de 9,78%±.0,23 y 46,86%±0,21 respectivamente. Se obtuvieron películas a partir del hidrolizado de 10 min, así como del control a diferentes tiempos de secado. Se obtuvieron películas con hidrolizados proteicos <10; sin embargo, el uso y alcance de éstas depende de las propiedades mecánicas que presenten por lo que, al resultar inadecuadas, se plantea trabajar con tiempos de hidrólisis menores a 10 min con la finalidad de obtener ocasionar menor ruptura en los enlaces que componen las proteínas y en consecuencia obtener mejor entrecruzamiento de la matriz con al agente gelificante (Bermejo; et al, 2018).

2.2. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.2.1. Nabo silvestre

Es una planta que forma semilla generalmente el primer año. Durante el año produce 8 a 12 hojas erectas de 26 a 35 cm. de alto, las raíces varían en tamaño, pero usualmente son de 7 a 10 cm de ancho y 15 a 20 cm de largo. La raíz consiste en un hipocótilo (parte de la planta que está entre la raíz verdadera y las primeras hojas). Su ciclo vegetativo dura de dos a cuatro meses, en función de las condiciones climáticas existentes, siendo más corto cuando las temperaturas son más altas y más largo cuando éstas son más bajas. Pueden ser considerados como una alternativa cuando la calidad y cantidad de forraje limita el potencial productivo, para terminación de ganado o previo a la renovación de las praderas (Antrillao Urrieta, 2009).

Identificación taxonómica del Nabo silvestre (*Brassica rapa L.*)

División : Magnoliophyta
Clase : Magniliopsidea
Orden : Brassicales
Familia : Brassicaceae
Género : Brassica
Especie : *Brassica sp.*

Figura 1. Nabo silvestre y semilla de nabo silvestre.

Fuente: Antrillao Urrieta (2009)

2.2.2. Composición química de la semilla

Los cultivares de Brassica poseen una composición química fluctúa aún dentro de una especie: aceite de 36 a 48%, proteína de 23 a 27%, y carbohidratos de 0 a 11%. La concentración de carbohidratos de bajo peso molecular es aproximadamente el 6% del peso seco de la harina desgrasada, correspondiendo al 20% del material hidrofílico que los carbohidratos de bajo peso molecular ocupan en la harina desgrasada aproximadamente el 10% y que de ellos los más abundantes son glucosa, arabinosa, xilosa y galactosa (Alanis Guzmán, 1993).

El aceite se encuentra de 42 a 50% en la semilla de colza de invierno, de 37 a 47% en la de verano, en el nabo de invierno es de 40 a 48% y en el de verano de 36 a 46% en base seca. Dependiendo de la variedad de que sea extraído, está constituido por los siguientes ácidos grasos: erúcico (22:1) de 24 a 61%, oleico (18:1) de 11 a 31%, linoleico (18:2) de 11 a 31%, linolénico de (18:3) de 6 a 14%, eicosaenoico (20:1) de 0 a 12%, y palmítico (16:1) de 2 a 7% (Alanis Guzmán, 1993).

El contenido de proteína en la semilla silvestre es de 26% y en la harina desgrasada de la misma semilla es de 47%. La digestibilidad de la proteína desgrasada sin cascarilla es de 93% con pepsina. La proteína es considerada de buena calidad evaluando su balance de aminoácidos esenciales: lisina, metionina y cisteína (Alanis Guzmán, 1993).

La proteína de *Brassica napus* y *Brassica campestris* tiene un buen balance de aminoácidos, especialmente rica en aminoácidos azufrados. La cantidad de esta proteína con un valor de índice de eficiencia proteínica (PHR) de 2.50 para la harina detoxificada, igual al obtenido por caseína. La composición de proteínas de estas semillas es completa e involucra proteínas de peso molecular (13 kDa) y puntos isoeléctricos cercanos a 11 en el 20 a 45% de la proteína total. También se encuentran proteínas acídicas con puntos isoeléctricos de 4 a 7 y de pesos moleculares elevados de hasta 320 kDa y proteínas (Alanis Guzmán, 1993).

2.3. Bases conceptuales

2.3.1. Aislados proteicos

Un aislado proteico es aquel producto que es una forma altamente refinada de proteína, con un contenido proteico mínimo del 70 % sobre una base libre de humedad. Se elabora a partir de harina desengrasada, a la que se elimina la mayor parte de sus componentes no – proteicos, grasas y carbohidratos, se usan principalmente para mejorar la textura de los productos cárnicos, pero también para incrementar el contenido proteico y mejorar el sabor (Aremu, Olonisakin, & Ogunlade, 2007).

2.3.2. Usos y aplicaciones de los aislados proteicos

Chau, Cheung, & Wong (1997) comenta que actualmente los aislados proteicos más extendidos son los de soja, ya que ofrecen ventajas económicas, nutricionales y funcionales manteniendo las cualidades sensoriales deseables necesarias para la aceptación por el consumidor.

Hoy día existen una gran variedad de aislados de soja disponibles comercialmente, diseñados específicamente para proporcionar las características deseadas según el alimento de que se trate. La mayoría de las aplicaciones tienen lugar en alimentos tradicionales que ya tienen establecidos una serie de parámetros de utilización y calidad. Para tener éxito en estos productos, los aislados deben mantener esta calidad. Esto quiere decir igual o similar color, sabor, aroma, textura y composición química y nutricional.

Estos requerimientos, exigidos por el consumidor, determinan el grado de sustitución proteica.

En los últimos años también se han producido aislados proteicos de otros cultivos como colza, trigo, maíz, garbanzo, girasol e incluso de cultivos menores como amaranto (Martinez & Bressani, 1996). Por último, las proteínas de los aislados pueden ser modificadas químicamente, como por ejemplo mediante acilación para mejorar determinadas propiedades como la solubilidad o mediante desamidación ácida para mejorar otras

propiedades funcionales (Fernández-Quintela, Macarulla, & Del Barrio, 1997). La mejora de la nutrición es la razón primordial para el uso de los aislados en carnes magras, fórmulas infantiles, bebidas nutritivas para adultos y suplementos proteicos.

En conclusión, la disponibilidad en grandes cantidades de fuentes proteicas vegetales como la harina desengrasada de oleaginosas, junto con la tendencia a reducir la ingesta de proteínas animales, hace que en los últimos años se esté produciendo un gran desarrollo en los procesos de extracción y mejora de estas proteínas vegetales para su uso en alimentación humana. En este sentido, en los próximos años se va a producir un incremento en la disponibilidad de nuevas fuentes proteicas vegetales y en la transformación de estas para su aplicación con fines alimenticios muy concretos conforme a las demandas del mercado en alimentación especializada (infantil o clínica).

2.4. Definición de términos

Solubilidad: La solubilidad es un concepto físico que mide la capacidad máxima para disolverse un soluto en un disolvente determinado y a una temperatura determinada. Lo cual lleva implícito el termino de disolución saturada (Zayas, 1997).

Propiedades funcionales: Son propiedades físicas y químicas que afectan el comportamiento de las proteínas en sistemas alimenticios, durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo (Edymar, 2016).

Aislado proteico: Un aislado proteico es aquel cuyo contenido de proteínas es mayor al 70% y que las proteínas constituyentes deben ser exactamente las que se encontraban en la fuente orgánica inicial, sin haber sufrido proceso de degradación o hidrolisis no deseables (Caiza, 2011).

2.5. Hipótesis

De lo anteriormente expuesto se pensó en plantear la siguiente hipótesis de investigación:

Existe efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica rapa L.*).

2.6. Variables

2.6.1. Variable independiente

- pH de extracción

2.6.2. Variable dependiente

- Rendimiento
- Propiedades funcionales
  - Densidad aparente
  - Densidad compacta
  - Índice de Carr
  - Ratio de Hausner
  - Índice de Solubilidad en agua
  - Índice de absorción de agua
  - Capacidad de retención de aceite
  - Capacidad de formación de espuma
  - Capacidad de gelificación
  - Capacidad emulsificante

2.7. Operacionalizacion de variables

Tabla 1

Operacionalizacion de variables.

Variable	Dimensión	Indicador	Unidad
	Variable independiente		
pH de extracción	Ph	Escala de pH	Adimensional

Variables dependiente

Rendimiento	Rendimiento	Masa final/masa inicial	porcentaje
	Densidad aparente	Densidad	g/mL
	Densidad compacta	Densidad	g/mL
	Índice de Carr	Fórmula	adimensional
	Ratio de Hausner	Fórmula	%
	Índice de Solubilidad en agua	Fórmula	g proteína/g agua
		Fórmula	g agua/g proteína
	Índice de absorción de agua	Fórmula	g aceite/g proteína
Propiedades Funcionales	Capacidad de retención de aceite	Fórmula	adimensional
	Capacidad de formación de espuma	Fórmula	adimensional
		Fórmula	adimensional
	Capacidad de gelificación	Formula	Porcentaje
		Formula	Porcentaje
	Capacidad emulsificante	Formula	Porcentaje

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Ámbito temporal y espacial.

La investigación se realizó en las instalaciones de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Cencías Agrarias, en condiciones de laboratorio, en el año 2019.

Ubicación política

Departamento : Huancavelica.

Provincia : Acobamba.

Distrito : Acobamba

Lugar : Común Era

3.2. Tipo de Investigación

La presente investigación fue de tipo aplicada, ya que, buscó la aplicación o utilización de los conocimientos adquiridos, a la vez que se adquieren otros, después de implementar y sistematizar la práctica basada en investigación.

3.3. Nivel de Investigación

El nivel de investigación en el presente trabajo de investigación fue experimental ya que, se pudo manipular las diferentes variables con las que se trabajó.

3.4. Población y Muestra

3.4.1. Población

La población utilizada para el presente estudio fue 10 kg de semilla de nabo silvestre proveniente de la Provincia de Acobamba, Departamento de Huancavelica.

3.4.2. Muestra

Se eligió la muestra en cada caso la cantidad necesaria para cada prueba funcional, tomando en cuenta que deben ser tres muestras por característica funcional.

3.4.3. Muestreo

El muestreo para cada prueba de las características funcionales se realizó después de haber pasado por una limpieza y selección (para eliminar productos extraños a la semilla).

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Las técnicas e instrumentos utilizados para recolección de datos sobre las propiedades funcionales fueron las siguientes:

3.5.1. Métodos de investigación

El método general utilizado en la investigación fue el método hipotético –deductivo

3.5.2. Diseño de investigación

Se utilizó un Diseño Completo al Azar para evaluar el efecto del pH en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre. El diseño fue el aplicado a cada propiedad funcional de la proteína aislada**:**

Tabla 2

Diseño completo al azar

Propiedad Funcional				
Repeticiones	**pH**			
	7	**8**	**9**	**10**
1	R_{11}	R_{21}	R_{31}	R_{41}
2	R_{12}	R_{22}	R_{32}	R_{42}
3	R_{13}	R_{23}	R_{33}	R_{43}

3.5.3. Procedimiento de obtención de proteína aislada de semilla de nabo silvestre

Descripción del proceso

a. **Materia prima:** La materia prima utilizada fue la torta desengrasada de semilla de nabo silvestre obtenido de la extracción del aceite; la semilla utilizada pertenece a plantas silvestre que crecen en los sembríos de papa, haba y maíz, como “mala hierba”.

b. **Triturado:** Se realizó con un mortero hasta la eliminación de las partículas groseras para mejorar la extracción.

c. **Solubilización alcalina de proteínas:** Se realizó suspendiendo 100 g de torta desengrasada en distintos volúmenes de agua (50, 100 y 150 ml) y ajustando el pH a valores 7, 8, 9 y 10 con solución de NaOH 1 N, bajo agitación. Los tiempos de extracción empleados fueron de 60 minutos.

d. **Filtrado:** Transcurrido el tiempo de extracción, los residuos insolubles fueron separados mediante filtración con tela de seda; para eliminar el residuo sólido insoluble, y el líquido pondrá en un vaso para su precipitación.

e. **Precipitación:** Para la precipitación de las proteínas se adicionó, gota a gota y bajo agitación suave, ácido clorhídrico 2 N al filtrado colectado en el paso anterior, hasta alcanzar el punto isoeléctrico de las proteínas, caracterizado por la aparición de un color lechoso a un pH 4,5, y dejando en reposo por 60 minutos a temperatura de refrigeración (2 a 8 °C). Luego de la sedimentación de las proteínas de semilla de nabo silvestre, se eliminó el sobrenadante.

f. **Lavado:** El lavado de las proteínas precipitadas se realizó con 100 mL de agua destilada por tres veces; después de cada precipitación (sedimentación), con la finalidad de neutralizar el aislado proteico obtenido.

g. **Centrifugado:** la proteína lavada se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos. Y se eliminó el sobrenadante.

h. **Secado:** Finalmente, el aislado de proteínas fue puesto en placas Petri y secado en estufa, a temperatura de 70ºC, por 12 h, determinándose el peso final y obteniendo el aislado proteico. El aislado proteico se recuperó de las placas Petri, cuantificándose el porcentaje de proteína. La materia seca recuperada se calculó dividiendo el peso de aislado proteico obtenido entre el peso de torta desengrasada inicial, mientras que la proteína recuperada fue

calculada dividiendo los gramos de proteína en el aislado obtenido entre gramos de proteína en 100 g de torta.

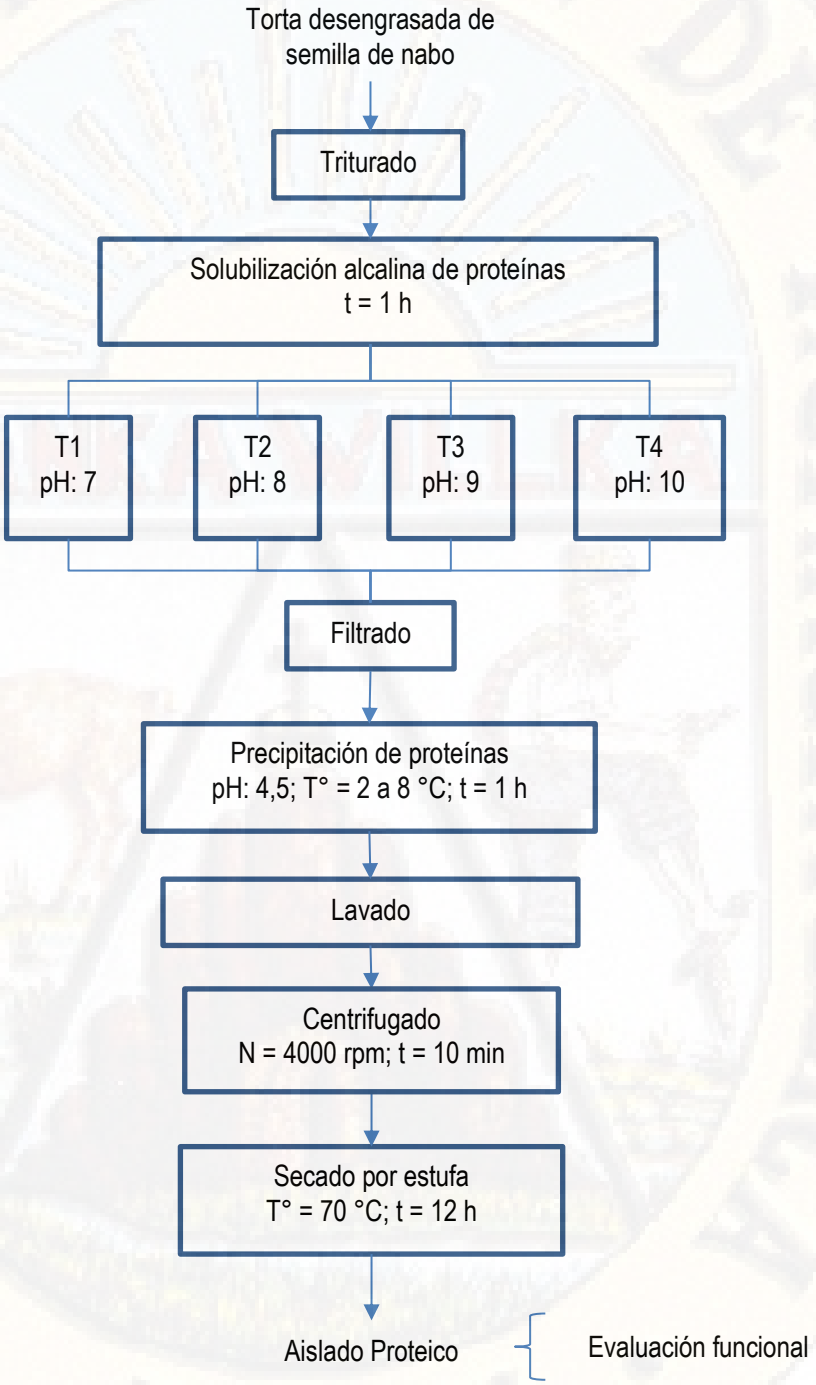


Figura 2. Diagrama de flujo de obtención de proteína aislada de nabo silvestre.

3.5.4. Rendimiento

El rendimiento de proteína aislada se calculó con la siguiente fórmula: Dónde:

$$\eta = \frac{P_{proteína\ aislada}}{P_{torta}} x100$$

3.5.5. Determinación de las propiedades funcionales de la proteína aislada de semilla de nabo silvestre

3.5.5.1. La densidad aparente y la densidad compactada

La densidad aparente (ρ_a) de la Proteína Aislada de Semilla de Nabo Silvestre (PASNS) se determinó midiendo el peso de la PASNS y el volumen correspondiente. Aproximadamente 1 g de la PASNS se transfirió a una probeta graduada de 10 mL. La densidad aparente se calculó dividiendo la masa de la PASNS por el volumen ocupado en la probeta graduada. Para la densidad compactada (ρ_c), la probeta graduada se golpeó a volumen constante con una varilla de vidrio. El volumen de la PASNS se midió y se usó en el cálculo de masa entre volumen para obtener la densidad compactada (Jinapong, Suphantharika, & Jamnong, 2008).

3.5.5.2. Índice de Carr (fluidez) y ratio de Hausner (cohesión)

La fluidez y la cohesión de la PASNS se expresaron en términos de Índice de Carr (CI) (Carr, 1965) y ratio de Hausner (HR) (Hausner, 1967), respectivamente. Tanto CI como HR se calcularon a partir de las densidades aparente (ρ_a) y compactada (ρ_c) de la PASNS como se muestra en las siguientes ecuaciones:

$$CI = \frac{\rho_C - \rho_a}{\rho_c} x100 \ldots (1)$$

$$HR = \frac{\rho_c}{\rho_a} \ldots (2)$$

La fluidez de los polvos con IC < 15 se clasifica como “muy buena”; 15 < CI < 20 como “bueno”; 20 < CI < 35 como “regular”; 35 < CI < 45 como “malo” y CI > 45 como “muy

malo" (Carr, 1965). Los polvos con HR por debajo de 1,2 se clasifican como grupo de "cohesividad baja"; con HR entre 1,2 y 1,4 se considera como "cohesividad intermedia" y HR de más de 1,4 se considera "cohesividad alta" (Hausner, 1967).

3.5.5.3. Índice de solubilidad en agua (ISA) e Índice de absorción de agua (IAA)

El índice de solubilidad en agua (ISA) y de absorción de agua (IAA) de se realizaron de acuerdo con el método de Rodríguez – Ambriz et al. (2008) con algunas modificaciones. Se mezcló 1 g (P_0) de PASNS con 35 mL de agua destilada, a temperatura ambiente. La mezcla se homogeneizó con un agitador vórtex (modelo RsLab-6Pro) a nivel máximo durante 5 minutos, y la solución se transfirió a un tubo de centrífuga previamente pesado de 50 mL, el tubo se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y se centrifugó a 4390 rpm durante 20 minutos en una centrífuga (modelo Nahita Blue). El tubo se drenó a un ángulo de 45° durante 10 minutos en una placa de petri previamente pesada (si se drena parte del sólido en el sobrenadante, se deja drenar también). El sobrenadante de la placa de petri se secó durante 12 h a 105 °C hasta peso constante, se pesó (P_1). El ISA se calculó dividiendo la masa seca del sobrenadante (P_1) entre la masa de muestra de PASNS usada en la prueba (P_0), expresado en porcentaje. La IAA se calculó como la diferencia de la masa de precipitado centrifugado (P_2) y la masa de muestra de PASNS usada en la prueba (P_0) dividida por la masa de muestra de PASNS usada en la prueba (P_0).

$$ISA = \frac{P_1}{P_0} \ldots (1)$$

$$IAA = \frac{(P_2 - P_0)}{P_0}\ x\ 100 \ldots (2)$$

3.5.5.4. Capacidad de retención de aceite (CRA)

Para determinar la capacidad de retención de aceite (CRA) de la PASNS se utilizó el método modificado de Rodríguez – Ambriz *et al.* (2008). Se mezclaron 25 mL de aceite de soya con 1 g de PASNS (P_0), se colocaron en un agitador vórtex (modelo RsLab-6Pro) durante 2 min y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 h. El tubo se centrifugó a 4390 rpm durante 20 min. El sobrenadante se decantó y el tubo se dejó drenar durante 10 minutos a un ángulo de 45°. El precipitado centrifugado se pesó (P_3), y se calculó el CRA como g de aceite por g de muestra de PASNS, de la siguiente manera:

$$CRA = \frac{(P_3 - P_0)}{P_0}$$

3.5.5.5. Capacidad de formación de espuma (CFE)

Se preparó soluciones proteicas de 0.5, 0.75 y 1.0% y se ajustó el pH la solución a 7 posteriormente se agitó por 5 min en una licuadora a máxima velocidad (Breña Díaz, 2018). Se calculó el porcentaje de volumen incrementado a los 30 s según la siguiente ecuación:

$$CFE\ (\%) = \frac{Volumen_{después\ del\ batido} - Volumen_{antes\ del\ batido}}{Volumen_{antes\ del\ batido}} x100$$

3.5.5.6. Capacidad de gelificación (CG)

Se preparó soluciones proteicas de 5, 10,15 y 20 % (p/v). Las soluciones se colocaron en tubos de ensayo y fueron calentadas a 90-95 °C en baño maría por 60 min. Luego fueron enfriados a 4 °C por 60 min. Los tubos fueron agitados para determinar la estabilidad del gel y aquellos conteniendo los geles estables fueron invertidos y dejados a temperatura ambiente por 30 min. Los resultados fueron reportados en términos de la menor concentración de muestra requerida para que el gel permanezca

estable por 30 min a temperatura ambiente (Coffmann & García, 1977).

3.5.5.7. Capacidad emulsificante (CE)

Se mezcló 1 g de aislado proteico con 20 mL de agua y se agitó durante 15 min. El pH de la solución proteica se ajustó a 7 y se aforó a 25 ml con agua destilada. Se mezcló los 25 ml de esta solución proteica con 25 ml de aceite de soya en una licuadora por 3 min y posteriormente se centrifugó a 1300 rpm por 5 min (Yasumatsu, y otros, 1972). La CE se expresó en términos de porcentaje como la altura de la capa emulsificador con respecto al total del líquido:

$$CE = \frac{Volumen\ final\ de\ la\ emulsión}{Volumen\ inicial\ de\ la\ emulsión} x100$$

3.6. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Obtenidos los datos se procedió al procesamiento de los datos con apoyo del software MS Excel y Minitab v.16 para Windows. Estos datos fueron sometidos a diversas pruebas estadísticas de carácter inferencial para luego probar las hipótesis planteadas en el estudio.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Presentación de datos

4.1.1. Rendimiento de proteína aislada de semilla de nabo silvestre

Tabla 3

Rendimiento de proteína aislada a diferente pH de extracción

pH	7	8	9	10
Rendimiento	17,880 ± 0,72 %[a]	66,875 ± 2,68 %[b]	55,000 ± 2,20 %[c]	36,125 ± 1,45 %[d]

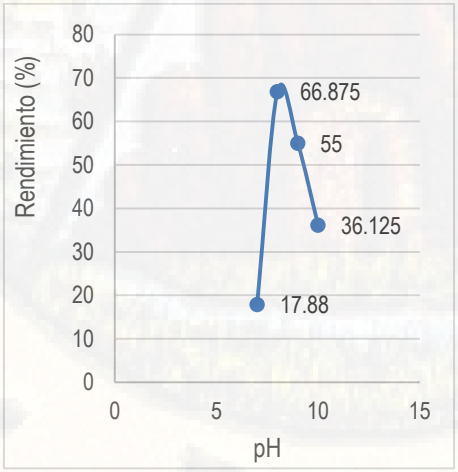
[a, b, c, d] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 4

Análisis de varianza del rendimiento de proteína aislada

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
pH	3	4179,55	1386,58	379,64	0,000*
Error	8	29,22	3,65		
Total	11	4188,97			

* Significativo a α = 0,05.



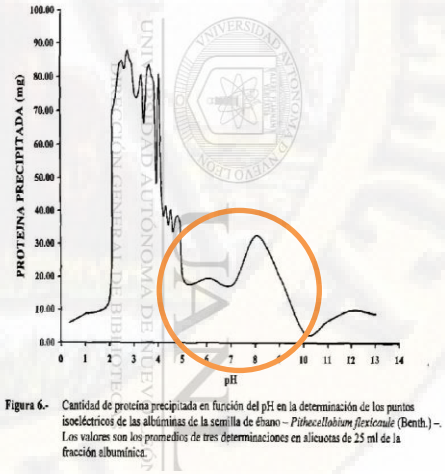


Figura 3. Variación del rendimiento con el pH de extracción.

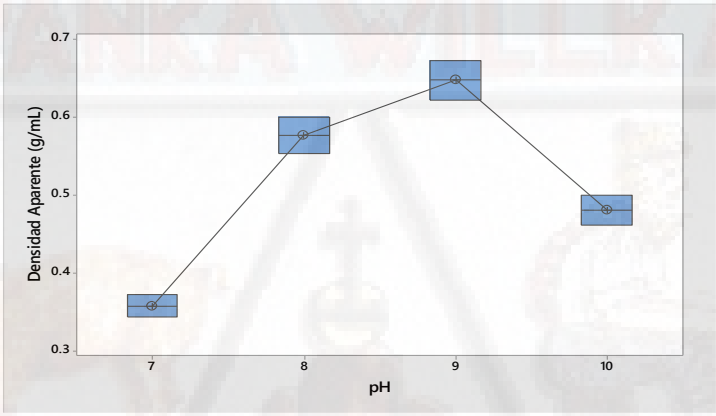
4.1.2. La densidad aparente y la densidad compactada

Tabla 5

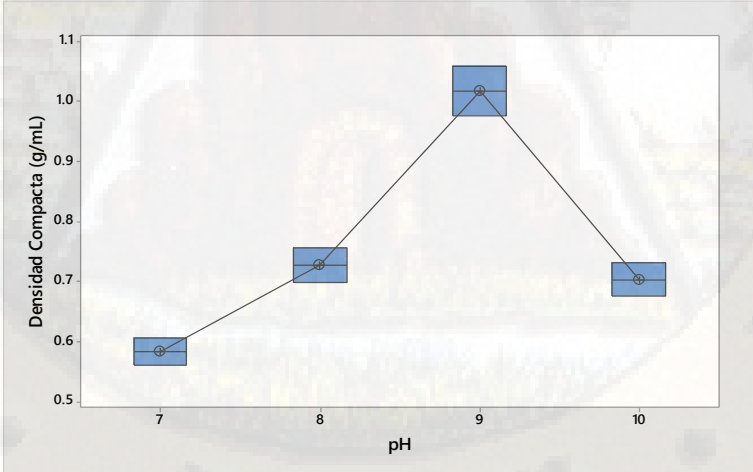
Densidad aparente y compacta a diferente pH de extracción

pH	Densidad Aparente (g/mL)	Densidad Compacta (g/mL)
7	0,357 ± 0,014[a]	0,583 ± 0,023[a]
8	0,576 ± 0,023[b]	0,727 ± 0,029[b]
9	0,647 ± 0,026[c]	1,017 ± 0,041[c]
10	0,480 ± 0,019[d]	0,703 ± 0,028[b]

[a, b, c, d] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.



a)



b)

Figura 4. Variación de a) densidad aparente y b) compacta con el pH de extracción.

Tabla 6

Análisis de varianza de la densidad aparente y compacta

Fuente	Grados de libertad	Densidad aparente		Densidad compacta	
		F	p	F	P
pH	3				
Error	8	106,78	0,000*	106,06	0,000*
Total	11				

* Significativo a α = 0,05.

4.1.3. Índice de Carr (fluidez) y ratio de Hausner (cohesión)

Tabla 7

Índice de Carr a diferente pH de extracción

pH	Índice de Carr	Fluidez
7	38,77%	Malo
8	20,83%	Regular
9	36,36%	Malo
10	31,71%	Regular

Tabla 8

Ratio de Hausner a diferente pH de extracción

pH	Ratio Hausner	Cohesividad
7	1,633	Alta
8	1,263	Intermedia
9	1,571	Alta
10	1,464	Alta

4.1.4. Índice de solubilidad en agua (ISA) e Índice de absorción de agua (IAA)

Tabla 9

Índice de solubilidad en agua a diferente pH de extracción

N°	pH	ISA (g/g)
1	7	0,16 ± 0,010[ac]
2	8	0,23 ± 0,003[b]
3	9	0,20 ± 0,032[ab]
4	10	0,12 ± 0,001[c]

[a, b, c] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 10

Análisis de varianza del índice de solubilidad en agua

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
pH	3	0,021519	0,007173	25,24	0,000*
Error	8	0,002273	0,000284		
Total	11	0,023793			

* Significativo a α = 0,05.

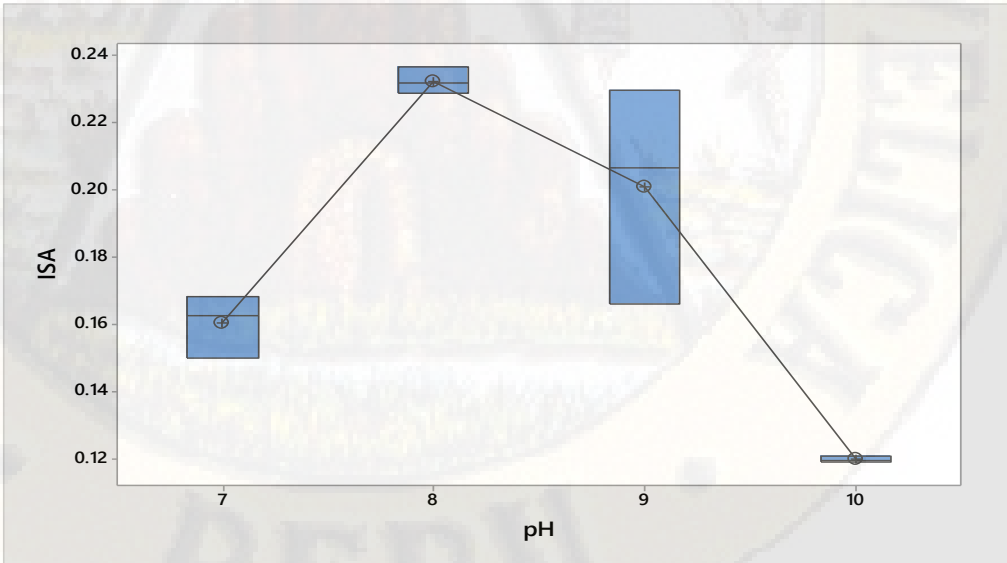


Figura 5. Índice de solubilidad de agua a diferente pH de extracción.

Tabla 11

Índice de absorción de agua a diferente pH de extracción

N°	pH	IAA (g/g)
1	7	1,183 ± 0,024[a]
2	8	1,160 ± 0,080[a]
3	9	1,656 ± 0,075[b]
4	10	1,560 ± 0,071[b]

[a, b] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 12

Análisis de varianza del índice de absorción de agua

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
pH	3	0,58611	0,195371	43,96	0,000*
Error	8	0,03555	0,004444		
Total	11	0,62167			

* Significativo a α = 0,05.

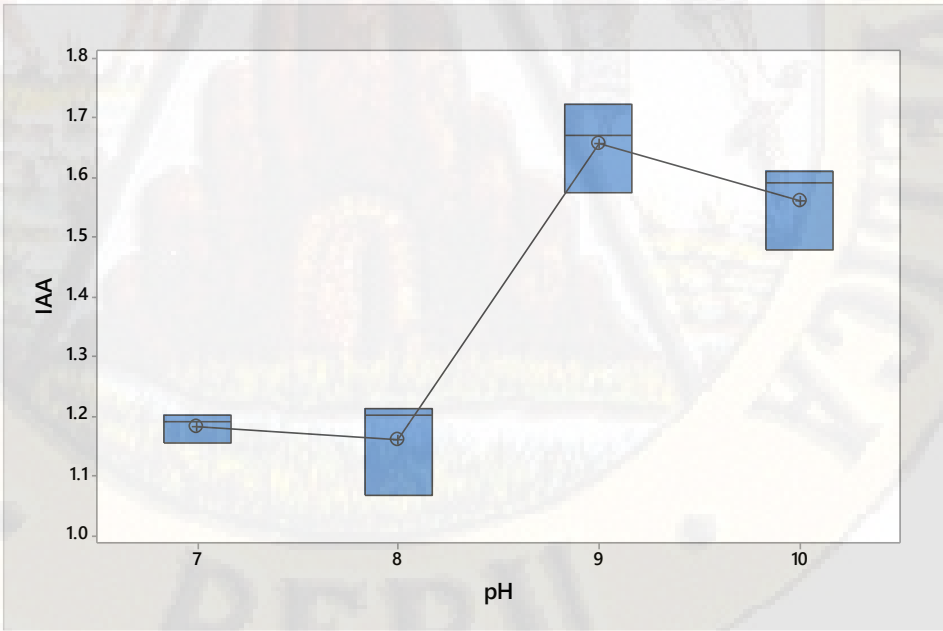


Figura 6. Índice de absorción de agua a diferente pH de extracción.

4.1.5. Capacidad de retención de aceite (CRA)

Tabla 13

Capacidad de retención de aceite a diferente pH de extracción

N°	pH	CRA
1	7	1,0045 ± 0,0495[a]
2	8	0,909 ± 0,161[a]
3	9	0,865 ± 0,072[a]
4	10	1,045 ± 0,035[a]

[a] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 14

Análisis de varianza de la capacidad de retención de aceite

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
pH	3	0,06216	0,020719	2,39	0,144
Error	8	0,06939	0,008674		
Total	11	0,13155			

* Significativo a α = 0,05.

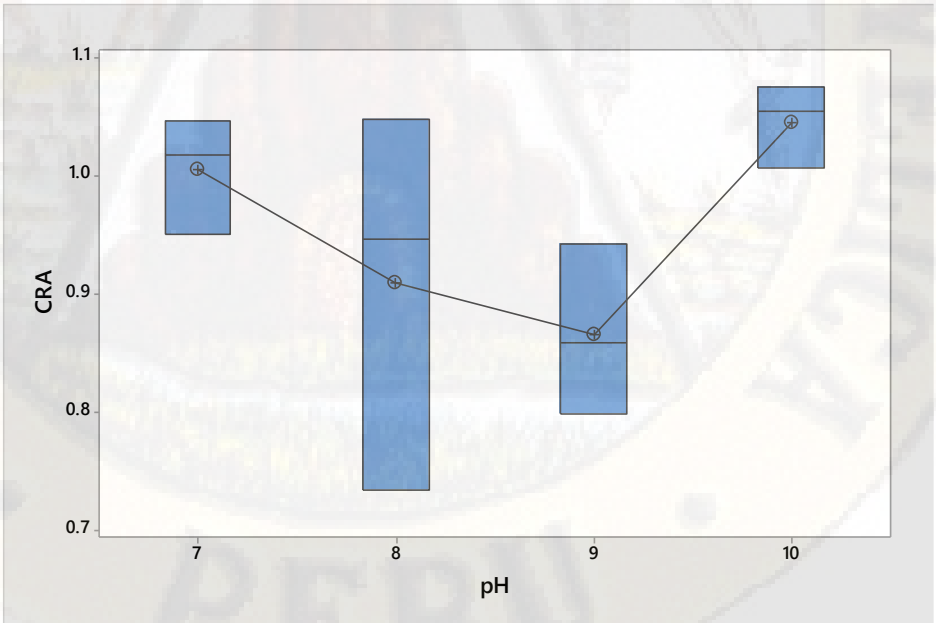


Figura 7. Capacidad de retención de aceite a diferente pH de extracción

4.1.6. Capacidad de formación de espuma (CFE)

Tabla 15

Capacidad de formación de espuma a diferentes pH de extracción

N°	pH	CFE
1	7	4,936 ± 0,363 % [a]
2	8	6,060 ± 2,62 % [ab]
3	9	10,41 ± 2,48 % [ab]
4	10	11,11 ± 2,75 % [b]

[a, b] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 16

Análisis de varianza de la capacidad de formación de espuma

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
pH	3	0,008567	0,002856	5,51	0,024*
Error	8	0,004145	0,000518		
Total	11	0,012712			

* Significativo a α = 0,05.

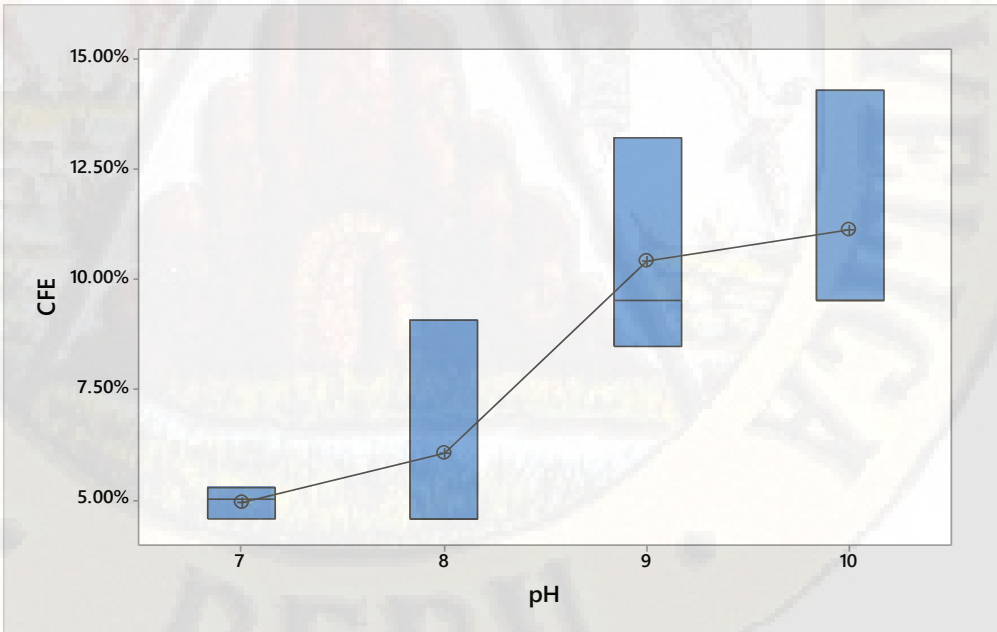


Figura 8. Capacidad de formación de espuma a diferente pH de extracción.

4.1.7. Capacidad de gelificación (CG)

Tabla 17

Análisis de varianza de la capacidad de gelificación

pH	Concentración (%)	Gelificación	pH	Concentración (%)	Gelificación
7	5	(-)	9	5	(-)
7	10	(-)	9	10	(-)
7	15	(-)	9	15	(+)
7	20	(+)	9	20	(+)
8	5	(-)	10	5	(-)
8	10	(-)	10	10	(-)
8	15	(-)	10	15	(+)
8	20	(+)	10	20	(+)

(-): No hubo gelificación, (+): Si hubo gelificación.

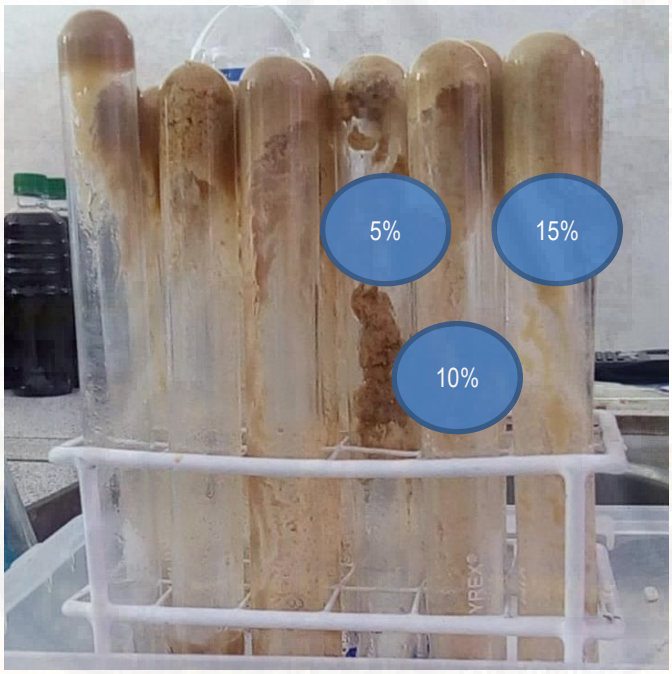


Figura 9. Capacidad gelificación de proteína aislada de nabo.

4.1.8. Capacidad emulsificante (CE)

Tabla 18

Capacidad emulsificante de proteína aislada de nabo

N°	pH	CE
1	7	109,540 ± 2,720 % [b]
2	8	105,301 ± 1,067 % [b]
3	9	129,263 ± 1,624 % [a]
4	10	108,910 ± 4,070 % [b]

[a, b] Las medias con diferente letra, indican diferencias significativas.

Tabla 19

Análisis de varianza de la capacidad emulsificante

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	p
pH	3	0,140887	0,046962	67,82	0,000*
Error	8	0,008310	0,000692		
Total	11	0,149196			

* Significativo a α = 0,05.

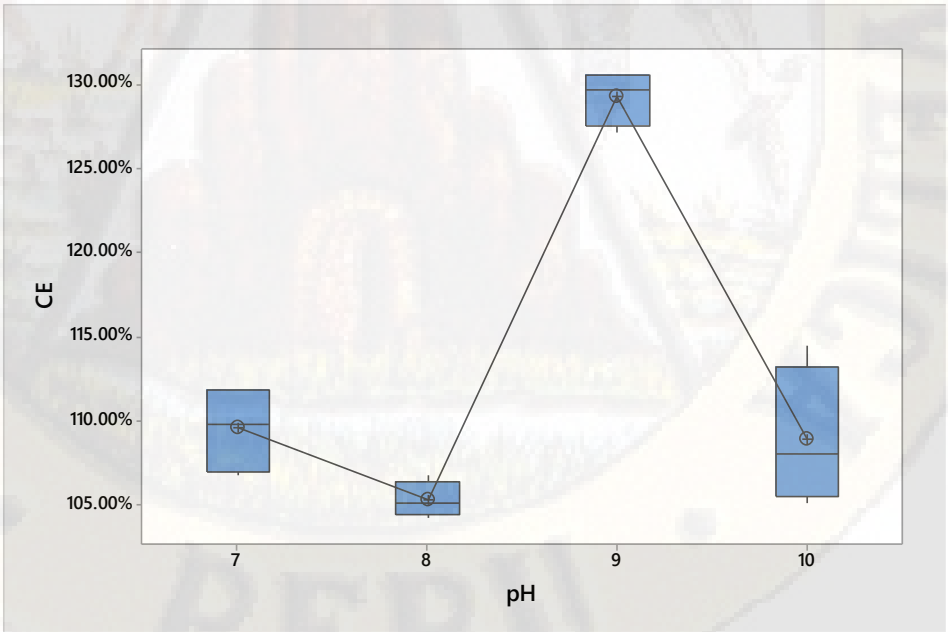


Figura 10. Capacidad emulsificante de proteína aislada de nabo.

4.1.9. Composición química proximal de la semilla de nabo silvestre y de su proteína aislada

Tabla 20

Composición química proximal de la semilla de nabo silvestre y su proteína aislada a pH 8

Análisis	Semilla	Proteína aislada
	(g/100 g de muestra original)	
Humedad	6,79	2,52
Ceniza	5,56	5,69
Grasa	21,32	18,37
Proteína	27,39	45,18
Fibra	12,87	1,85
Carbohidratos	26,04	26,36
Energía total (kcal)	399,15	445,00

4.2. Discusión de resultados

La proteína aislada de semilla de nabo silvestre (PASNS) fue extraída empleando pH alcalino de un rango de 7 a 10, un aislado proteínico generalmente es preparado por la dispersión inicial del material crudo en una solución alcalina. Después de remover el material insoluble, las proteínas disueltas son recuperadas por precipitación ácida, debido a esto, el aislado contiene menos impurezas y su calidad funcional es más aceptable que la de los concentrados (Alanis Guzmán, 1993).

El resultado obtenido con respecto al rendimiento de aislado proteico, en primer lugar, revela que a pH 8 el rendimiento fue más elevado (Tabla 3), y estadísticamente diferente los extraídos a pH 7, 9 y 10 (Tabla 4). En adición se observa que, gráficamente sigue el mismo comportamiento de otros aislados proteicos extraídos a diferentes pH alcalinos (Figura 4) como el caso de la jojoba (Gonzáles Quijada, 1999).

El rendimiento más alto fue de 66,875% a pH 8, en tal comparación con otros autores que lograron 75% en colza (Gonçalves, y otros, 1997), probablemente, el tratamiento previo para la extracción de aceite, desnaturalizó las proteínas en forma parcial, en el caso del nabo silvestre la extracción del aceite fue por prensado en frío. El proceso aplicado en comparación con otros experimentales, es el aplicado industrialmente para la obtención de aceite de colza, y además de bajo costo, es por ello, que se considera un buen rendimiento alcanzado en este trabajo de investigación.

La densidad aparente es una propiedad fundamental utilizada para caracterizar los productos en polvo y es de gran importancia por razones económicas y funcionales. Esta propiedad determina el comportamiento de un material en mezclas secas y el volumen que ocupara durante el embalaje la cual depende de factores interrelacionados, como el tamaño de partícula, el número de puntos de contacto y la intensidad de las fuerzas atractivas entre partículas (Sogi, Garg, & Bawa,, 2002; Piornos, y otros, 2015). La densidad compacta es el resultado de compactar la muestra con golpes a la probeta que lo contiene y volver a medir el volumen de la misma masa, por lo tanto, para efectos de análisis se tomará como si fueran similares. La densidad compacta permitió otros cálculos como la fluidez y cohesividad, como se verá más adelante.

El pH de extracción de proteína aislada de nabo tuvo un efecto significativo en la densidad aparente y la densidad compacta (Tabla 6) y se observó un incremento de ambas desde pH 7 hasta 9, y luego un decremento a pH 10 (Tabla 5, Figura 5). Lo anterior fue debido a que, el pH alcalino genera una desnaturalización alcalina que implica la neutralización de la carga positiva de cadenas laterales de Lys, His y Arg (Badui Dergal, 2006); y por lo tanto, es probable que, hasta pH 9 se logra solubilizar la mayor cantidad de proteínas de la semilla de nabo, estas moléculas logran expandirse por las nuevas cargas negativas que imperan (Badui Dergal, 2006), por ello, el volumen disminuye, generando un aumento de la densidad.

En los procesos tecnológicos que involucran la obtención de aislados proteínicos vegetales es el tratamiento alcalino el que se aplica con mayor frecuencia. Se utiliza para elevar la concentración de proteína y requiere de una solubilización alcalina a valores de pH cercanos a 10 (López, Flores, Gálvez, Quirasco, & Farrés, 2003). Con este proceso se busca modificar las estructuras originales de las proteínas para aumentar su potencial tecnológico y mejorar sus propiedades funcionales, aunque es frecuente encontrar en estas condiciones una porción de las moléculas que han sufrido hidrólisis. Además, en esos valores de pH los grupos ionizables que adquieren cargas negativas traen como consecuencia una expansión de las moléculas causada por repulsiones intramoleculares debido a sus cargas iguales (Badui Dergal, 2006). En comparación con otros aislados, estos resultados de densidad aparente son similares a los reportados por Betschart, Fong, & Hanamoto (1979), con valor de 0,59 g/mL y por Sogi, Garg, & Bawa (2002), con valor de 0,57 g/mL para un aislado proteico de cártamo y un concentrado proteico de tomate, respectivamente. Valores menores a los de este estudio fueron reportados por Tasneem & Prakash (1992) en aislados proteicos de cártamo (0,35 a 0,48 g/mL). Por otro lado, AI-Kahtani & Abou-Arab (1993) reportaron valores de densidad aparente superiores (0,67 g/mL) a los del presente trabajo para un aislado proteico de soya.

El índice de Carr sirve para determinar la fluidez de los polvos, en porcentajes de compresibilidad (Islam, Kitamura, Kokawa, Monalisa, & Hsuan Tsai, 2017). La compresibilidad indica de qué manera la presión reduce el volumen de un conjunto de gránulos y sirve para determinar la fluidez de los polvos, las muestras de PAN se encuentran en un rango entre 20,83 y 38,77% de compresibilidad lo que indica que tienen una fluidez mala a pH 7 y 9, mientras que a pH 8 y 10 presenta un valor de compresibilidad regular, lo que indica que tiene una mejor fluidez, la compresibilidad y el índice de Hausner se correlacionan, un alto porcentaje de compresibilidad (índice de Carr) e índice de Hausner indican poca fluidez y alta cohesividad, lo que se puede observar

en la muestra de PASNS a pH 7, que tiene, en general, menor fluidez que el resto de las muestras.

Konstance, Onwulata, & Holsinger (1995) señalan que un entre más cohesivo sea un polvo, menor será la densidad aparente y mayor será la compresibilidad, lo que coincide con los resultados obtenidos (Tabla 7, Tabla 8), donde la PAN a pH 7, presenta un mayor índice de Hausner, un alto porcentaje de compresibilidad y una baja densidad aparente (Tabla 5, Figura 5), mientras que, el PASNS a pH 8 presenta los valores de densidad aparente más altos y los valores de compresibilidad e índice de Hausner más bajos.

El índice de Hausner sirve para determinar la cohesividad que presentan los polvos (Islam, Kitamura, Kokawa, Monalisa, & Hsuan Tsai, 2017), en las muestras el índice de Hausner varió entre 1,263 y 1,633, el mayor valor para el índice de Hausner se presentó en la PAN a pH 7, lo que indica una alta cohesividad en esta muestra, y del mismo modo para el pH 9 y 10; mientras que a pH 8 presentó un intermedio de cohesividad. Las fuerzas cohesivas que actúan entre las partículas pueden ser fuerzas de van der Waals, fuerzas interfaciales y ligamientos líquido-sólido, y éstas fuerzas son dependientes de la distancia entre las partículas y el número de puntos de contacto, cuando se aplica alguna presión sobre los polvos, el número de puntos de contacto aumente y se forman ligamientos sólidos, lo que ocasiona que los polvos se endurezcan y apelmacen (Peleg, Manheim, & Passy, 2006).

La solubilidad en agua es la cantidad de proteína de una muestra que se disuelve en una disolvente. Las propiedades espesantes, espumantes y gelificantes dependen de la solubilidad proteica. Las proteínas utilizadas como aditivos en alimentos pueden ser parcialmente o completamente solubles o completamente insolubles en agua (Zayas, 1997; Damodaran, 2000). En el caso de la PASNS se ha observado que, el índice de solubilidad más alto lo muestra la PASNS extraída a pH 8 (Figura 6), aunque es estadísticamente similar al pH 9 (Tabla 9). El pH de extracción de PASNS tuvo un efecto significativo en el índice de solubilidad en agua (Tabla 10) sin una tendencia definida (Figura 6). Esto se

debido que, a valores de pH mayores o menores al punto isoeléctrico, las proteínas tienen cargas netas positivas o negativas, respectivamente, lo que ocasiona que exista repulsión o atracción de los restos cargados, lo que promueve la solubilización. La mayoría de las proteínas alimentarias exhiben una menor solubilidad a pH en el punto isoeléctrico (4 – 5) y la máxima solubilidad a pH alcalino (Damodaran, 2000). Existen diversos factores por los que se ve afectada la solubilidad de las proteínas, entre los cuales se encuentran la fuerza iónica, el tipo de disolvente, pH, temperatura y las condiciones de procesamiento (Zayas, 1997). Las interacciones hidrofóbicas promueven la asociación proteína-proteína y disminuyen la solubilidad, mientras que las interacciones iónicas promueven las interacciones proteína-agua y aumentan la solubilidad (Damodaran, 2000).

Se evaluó el índice de absorción de agua (IAA) o capacidad de retención de agua de la PAN para retener moléculas de agua, se obtuvieron índices de absorción de agua entre 1,160 y 1,656 g/g, siendo estadísticamente similares entre sí las PASNS a pH 7 y 8, y así mismo las PASNS a pH 9 y 10 (Tabla 11), resultados similares han sido reportados para harinas de soya, concentrados de soya y aislados de soya, con índices de absorción de agua de 1,3, 2,2 y 4,4 g/g, respectivamente (Lin, Humbert, & Sosulski, 1974). El pH de extracción tuvo un efecto significativo sobre el índice de absorción de agua (Tabla 12), mostrándose un incremento súbito del IAA de la PASNS de pH 8 a 9 (Figura 7). La capacidad de retención de agua es la habilidad de retener agua propia y añadida durante la aplicación de fuerzas como presión, centrifugación o calentamiento (Zayas, 1997). Las moléculas de agua se fijan a varios grupos de las proteínas, entre los cuales se encuentran los grupos funcionales con carga mediante interacciones ion-dipolo, los grupos peptídicos del esqueleto, los grupos amida de asparagina y glutamina, los grupos hidroxilo de los residuos de serina, treonina y tirosina mediante interacciones dipolo-dipolo y los residuos hidrofóbicos mediante interacciones dipolo inducido-dipolo (Damodaran, 2000).

La capacidad de retención de agua de una proteína está influenciada por la concentración de la proteína, el pH, las fuerzas iónicas, temperatura, condiciones de almacenamiento, la presencia de otros componentes de los alimentos como polisacáridos hidrofílicos, lípidos y sales, y la composición aminoacídica (entre más elevado sea el número de residuos cargados, mayor es la capacidad de retención) (Damodaran, 2000).

La capacidad de retención de agua no sufrió ningún efecto debido al pH de extracción (Tabla 13, Tabla 14) fue estadísticamente similar en todos los casos. EI mecanismo de absorción de aceite puede ser explicado como el atrapamiento físico del aceite (Ulloa, Rosas-Ulloa, & Ulloa-Rangel, 2011).
La exposición de los grupos hidrófobos (Hu, y otros, 2013; Zhou, y otros, 2016), permite el atrapamiento físico del aceite (Meinlschmidt, Sussmann, Schweiggert-Weisz, & Eisner, 2016). Sin embargo, los resultados de CRA para las PASNS de este estudio fueron menores a los reportados por Paredes-López & Ordorica-Falomir (1986), para aislados proteicos de cártamo con valores de 2,46 y 2,90 g de aceite/ g proteína y al reportado por Yuliana, Truong, Huynh, Ho, & Ju (2014), con un valor de 4,28 g de aceite/g proteína para un aislado proteico de nuez de la India, pero similares a los reportados por Betschart, Fong, & Hanamoto (1979), con 1,07 g de aceite/g proteína para un aislado proteico de cártamo. Un alto valor de CRA es necesario en un aislado proteico para que funcione como un extensor o sustituto en carnes, así como para conservar el sabor, aroma y mejorar la sensación en la boca en productos de panadería y sopas (Ulloa, Rosas-Ulloa, & Ulloa-Rangel, 2011).

La capacidad de formación de espuma (CFE) varió desde 4,936 a 11,11% (Tabla 15), demostrándose un efecto significativo (Tabla 16) y positivo, es decir fue directamente proporcional (Figura 9) al pH de extracción de PASNS. La CFE se refiere a la habilidad de una proteína, en ciertas condiciones (concentración, pH, temperatura), para formar una espuma (Stone, Karalash, Tyler, Warkentin, & Nickerson, 2015). La CFE de los aislados proteicos son las propiedades funcionales que determinan su aplicación en el sistema

alimentario, donde se requiere aireación y saturación (Shevkani, Singh, Kaur, & Rana, 2015); esta propiedad es importante en sistemas alimenticios como pasteles, helados y postres (Ulloa, Rosas-Ulloa, & Ulloa-Rangel, 2011). Los resultados logrados en este estudio fueron menores a los reportados por Paredes-López & Ordorica-Falomir (1986) para CFE de un aislado proteico de cártamo con un valor de 22,7%. Por otra parte, los resultados obtenidos para CFE en este trabajo son inferiores a los reportados para la fracción I de las proteínas de semilla de cártamo, en donde consiguieron valores de 490% y 88%, respectivamente (Sagiroglu, Ozcan, & Satana, 2009).

Para que la PASNS extraído a pH 7 y 8 forme un gel estable se necesitó una concentración de 20%, mientras que la PASNS extraída a pH 9 y 10 sólo necesitó un 15% (Tabla 17, Figura 10). La concentración mínima para gelificar proteínas de distintas leguminosas oscila entre 12 a 14% (Mashair, Abdullahi, Abd, Elfadil, & Elhadi, 2006); pero para el caso del caupí y frijol mungo se ha reportado un valor de 16% (Dench, Rivas, & Caygill, 1981). Asimismo, la PASNS mostró una CG y una CRA bajas, lo que está de acuerdo con trabajos realizados anteriormente que mencionan que la CG y la CRA están directamente relacionadas (Prinyawiwatkul, Beuchat, McWatters, & Phillips, 1997).

El proceso de gelificación es el resultado de interacciones proteína-proteína y proteína-agua. El gel se forma cuando las proteínas se desenvuelven ligeramente y segmentos polipeptídicos interactúan en puntos específicos para formar redes reticuladas tridimensionales. Para la gelificación se requiere un desplegamiento parcial de las proteínas que ocasiona ligeros cambios en su estructura secundaria (Clark & Lee-Tuffnell, 1986). Los enlaces responsables de la formación del gel son principalmente puentes disulfuro, puentes salinos y/o interacciones hidrofóbicas. Para que un gel sea rígido se requieren concentraciones altas de proteína, pero la estructura del gel y sus propiedades reológicas varían dependiendo del tipo de proteína, pH, fuerza iónica y temperatura (Walstra, 2000).

Los geles se caracterizan por una alta viscosidad, plasticidad, y elasticidad. La habilidad de las proteínas para formar un gel y proveer una matriz estructural para retener agua, sabores, azúcares e ingredientes alimentarios es útil en el desarrollo de nuevos productos, porque provee una dimensión añadida a la funcionalidad de la proteína. Además de la formación de cuajadas y geles, que pueden ser explotadas para fabricar alimentos análogos, como quesos y carnes, la capacidad de nuevas proteínas de formar pastas con propiedades texturales, físicas y organolépticas peculiares, merece atención porque son excelentes vehículos de nutrientes (Kinsella & Melachouris, 1976).

En las proteínas aisladas de nabo la capacidad emulsificante (CE) presentó diferencias significativas en cuanto al pH de extracción (Tabla 19); sin embargo, sin embargo, sólo la PASNS extraída a pH 9, fue estadísticamente diferente a las demás (Tabla 18) siendo la mayor capacidad emulsificante (129,263 ± 1,624 %). Este hallazgo es similar a los resultados obtenidos por Silva-Sánchez, González-Castañeda, De León-Rodríguez, & Rosa (2004) que reportaron que, la capacidad emulsificante depende del pH y obtuvieron la mayor capacidad emulsificante a pH 5 en albúmina de amaranto, por otro lado, también coincide con lo reportado por Cordero de los Santos, Osuna-Castro, Borodanenko, & Paredes-López (2005), quienes evaluaron capacidad emulsificante de aislados de proteína de amaranto y hallaron una mayor capacidad emulsificante en pH ácido, sin embargo ellos reportan actividades emulsionantes mayores, de hasta 86%, pero en pH 2. Cerca del punto isoeléctrico, las moléculas proteicas se encuentran en una configuración más compacta que en otros valores de pH y éstas son adsorbidas en la interface en esta configuración, lo que podría proveer una mayor concentración de moléculas proteicas por unidad de área de la interface y, consecuentemente, un mayor número de interconexiones por unidad de área, en comparación con otros valores de pH (Fidantsi & Doxastakis, 2001).

La Tabla 20 presenta la composición química proximal de la semilla de nabo silvestre y su proteína aislada obtenida a pH 8. Se eligió a la proteína aislada

de pH 8, porque fue la que tuvo mayor rendimiento extracción, y esto es comercialmente conveniente.

Se puede resaltar, en la semilla de nabo silvestre que el contenido en proteína es mayor (27,39 %) que en *Brassica campestris* (20,69 %) del autor Alanis Guzmán (1993). En el caso de la proteína aislada, es probable que el método utilizado, haya ocasionado pérdidas de proteína en el producto final, ya que, a pesar que se tuvo un rendimiento de 68%, sólo se logró obtener un aislado con 45,18 % de proteína, muy diferente al 93 %, obtenido por Alanis Guzmán (1993) en *Brassica campestris.* Se recomienda al final de este trabajo optimizar los parámetros de extracción para que aumente el contenido de proteína en el aislado proteico de nabo silvestre.

CONCLUSIONES

- El pH de solubilización tuvo un efecto altamente significativo ($p < 0,05$) en el rendimiento de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica rapa L.*), alcanzándose el máximo rendimiento a pH 8 de 66,875 %.

- El pH de solubilización tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.): densidad aparente, densidad compacta, índice de solubilidad en agua, índice de absorción de agua, capacidad de formación de espuma y capacidad emulsificante. Más no tuvo efecto significativo ($p > 0,05$) en la capacidad de retención de aceite.

- La proteína aislada de nabo silvestre extraída a pH 7 presentó los más altos índice de Carr y ratio de Hausner; a pH 8 el mayor rendimiento, el mayor índice de solubilidad en agua; a pH 9 la mayor densidad aparente y compacta, el mayor índice de absorción de agua, la menor capacidad de retención de aceite y la mayor capacidad emulsificante; y a pH 10 la mayor capacidad de retención de aceite y de formación de espuma.

RECOMENDACIONES

- Estudiar el efecto de otras variables en el rendimiento de extracción y las propiedades funcionales, como son: el uso de ultrasonido, temperatura, fuerza iónica, entre otras.

- Evaluar la toxicidad del aislado proteico ya que puede contener fitatos cuya presencia es indeseable en un aislado proteico.

- Realizar estudios aplicados usando la proteína aislada de semilla de nabo silvestre para desarrollar productos nuevos como carne vegetal, productos de panificación enriquecidos, helados, entre otros.

REFERENCIAS

Alanis Guzmán, G. (1993). Extracción y caracterización, química, nutricional y funcional de proteínas de semillas de Brassica campestris L. *(Tesis de Doctorado).* Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey.

Antrillao Urrieta, I. S. (2009). Utilización de nabo forrajero (Brassica rapa) como suplemento de otoño para la engorda de corderos, en la Zona Intermedia de Aysén. *(Tesis de licenciatura).* Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Aremu, M., Olonisakin, A., & Ogunlade, I. (2007). Fatty Acid and Amino Acid Composition of Protein Concentrate from Cashew Nut (Anacardiumoccidentale) Grown in Nasarawa State, Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition, 6*(5), 419-423. doi:10.3923/pjn.2007.419.423

Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos.* México D.F.: Pearson Educación de México SA.

Bermejo Cruz; et al. (2018). Evaluación del potencial antioxidante y propiedades fisicoquímicas de películas elaboradas a partir de hidrolizados proteicos de canola (Brassica napus L.)".

Breña Díaz, D. A. (2018). Obtención de un aislado proteico de torta de tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) y evaluación de sus propiedades tecnofuncionales. *(Tesis de pregrado).* Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Obtenido de http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3802/bre%C3%B1a-diaz-daniel-angel.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Caiza, A. J. (2011). *Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (Lupinus mutabilis) a partir de harina integral.* Escuela Nacional Politécnica, Quito.

Carr, R. (1965). Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering, 72*, 163-168. Obtenido de http://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1346174

Clark, A., & Lee-Tuffnell, C. (1986). Gelation of globular proteins. En J. Mitchell, & D. Ledward, *Functional Properties of Food Macromolecules* (págs. 203-

272). New York: Editorial Elsevier. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00042-X

Coffmann, C., & García, V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science & Technology, 12*(5), 473-484. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00132.x

Damodaran, S. (2000). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En O. Fennema, *Química de los alimentos* (págs. 383-511). Zaragoza: Editorial Acribia SA.

Dench, J., Rivas, N., & Caygill, J. (1981). Selected functional properties of sesame (Sesamum indicum) flour and two protein isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 32,* 557-564. doi:https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320606

Edymar, A. (2016). Gelificacion inducida por efecto del calor solubilidad de proteínas en función del pH . propiedades funcionales de las proteínas QAIII. *Actualizada 29 de Jujio*.

Fernández-Quintela, A., Macarulla, M., & Del Barrio, A. (1997). Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. *Plant Foods Hum Nutr, 51,* 331. doi:https://doi.org/10.1023/A:1007936930354

Fidantsi, A., & Doxastakis, G. (2001). Emulsifying and foaming properties of amaranth seed protein isolates Colloids and Surfaces B. *Biointerfaces, 21,* 119-124. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11377941

Gonçalves, N., Vioque, J., Clemente, A., Sánchez-Vioque, R., Bautista, J., & Millán, F. (1997). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. *Grasas y aceites, 48*(5), 282-289.

Gonzáles Quijada, M. R. (1999). *Caracterización fisicoquímica y valorización nutricional y funcional de un aislado proteico obtenido de la semilla de ébano (Pithecellobium flexicaule Benth).* Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León.

Hausner, H. (1967). Friction conditions in a mass of metal powder. *Int. J. Powder Metall, 3*, 7-13. Obtenido de https://www.osti.gov/biblio/4566075-friction-conditions-mass-metal-powder

Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E., Zhu, L., Zhang, F., & Xu, X. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids, 30*(2), 647-655. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.001

Islam, M., Kitamura, Y., Kokawa, M., Monalisa, K., & Hsuan Tsai, M. S. (2017). Effects of micro wet milling and vacuum spray drying on the physicochemical and antioxidant properties of orange (Citrus Unshiu) Juice with Pulp Powder. *Food and Bioproducts Processing, 101*(1), 132–144. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.11.002

Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of Instant Soymilk Powders by Ultrafiltration, Spray Drying and Fluidized Bed Agglomeration. *J Food Eng, 84*, 194-205. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.05.022

Kinsella, J., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: A survey. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 7*, 219-280. doi:https://doi.org/10.1080/10408397609527208

Lin, M., Humbert, E., & Sosulski, F. (1974). Certain functional properties of sunfluwer meal products. *J. Food Sci, 39*, 368. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb02896.x

López, G., Flores, I., Gálvez, A., Quirasco, M., & Farrés, A. (2003). Development of a liquid nutrional suplement using a Sesamun indicum L. protein insolate Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie. *Lebensm Wiss. Technology, 36*, 67-74. doi:10.1016/S0023-6438(02)00173-1

Martínez, N., & Añón, C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *J. Agric. Food Chem, 44*(9), 2523-2530. doi:https://doi.org/10.1021/jf960169p

Mashair, S., Abdullahi, E., Abd, E., Elfadil, B., & Elhadi, E. (2006). Solubility as influenced by pH and NaCl Concentration and functional properties of lentil proteins isolate. *Pakistan Journal of Nutrition, 5*(6), 589-593. doi:10.3923/pjn.2006.589.593

Meinlschmidt, P., Sussmann, D., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2015). Enzymatic treatment of soy protein isolates: effects on the potential allergenicity, technofunctionality, and sensory properties. *Food Science and Nutrition, 4*, 11-23. doi:10.1002/fsn3.253

Ogunwolu, S., Henshaw, F., Mock, H., Santros, A., & Awonorin, O. (2009). Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (Anacardium occidentale L.) nut. *Food Chemistry, 115*(3), 852–858. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.011

Peleg, M., Manheim, C., & Passy, N. (2006). Flow properties of some food powders. *Journal of Food Science, 38*(1), 959-964. doi:10.1111/j.1365-2621.1973.tb02124.x

Piornos, J., Burgos-Diaz, C., Ogura, T., Morales, E., Rubilar, M., Maureira-Butler, I., & Salvo Garrido, H. (2015). Functional and physicochemical properties ofa protein isolate from Aluprot CGNA: A novel protein-rich lupin variety (Lupinus Iuteus). *Food Research International, 76*(1), 719-724. doi:10.1016/j.foodres.2015.07.013

Prinyawiwatkul, W., Beuchat, L., McWatters, K., & Phillips, D. (1997). Functional Properties of Cowpea (Vigna unguiculata) Flour As Affected by Soaking, Boiling, and Fungal Fermentation. *J. Agric. Food Chem, 45*(2), 480-486. doi:https://doi.org/10.1021/jf9603691

Sagiroglu, A., Ozcan, H., & Satana, A. (2009). Functional and biochemical properties of proteins from safflower seed. *Preparative Biochemistry and Biotechnology, 39*, 159-169. doi:https://doi.org/10.1080/10826060902800833

Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J. (2015). Structural and functional characterization ofkidney bean and field pea protein isolates: A comparative

study. *Food Hydrocolloids, 43,* 679-689. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.07.024

Sogi, D., Garg, S., & B. A. (2002). Functional properties of seed meals and protein concentrates from tomato processing waste. *Journal of Food Science, 67*(1), 2997-3001. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08850.x

Stone, A., Karalash, A., Tyler, R., Warkentin, T., & Nickerson, M. (2015). Functional attributes ofpea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International, 76*, 31-38. doi:10.1016/j.foodres.2014.11.017

Ulloa, J., Rosas-Ulloa, P., & Ulloa-Rangel, B. (2011). Physicochemical and functional properties of a protein isolate produced from safflower (Carthamus tinctorius L.) meal by ultrafiltration. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 91*, 72-77. doi:10.1002/jsfa.4227

Walstra, P. (2000). Sistemas dispersos: consideraciones básicas. En O. Fennema, *Química de los alimentos* (págs. 110-185). Zaragoza: Editorial Acribia SA.

Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., & Ishii, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem, 36,* 719-727. doi:https://doi.org/10.1080/00021369.1972.10860321

Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2007). Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food Chemistry, 103*(1), 121-129. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.012

Zayas, J. (1997). *Functionality of proteins in food.* New York: Editorial Springer. doi:https://doi.org/10.1002/food.19970410529

Zhou, M., Liu, J., Zhou, Y., Huang, J., Liu, F., & Pan, S. (2016). Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties ofsoybeanglycinin at different ionic strengths. *Innovative Food Science and Emerging Technologies, 34*(1), 205-213. doi:10.1016/j.ifset.2016.02.007

APÉNDICE

Apéndice 01. Matriz de consistencia

Titulo: "Efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de semilla de nabo silvestre (*Brassica rapa L*)".

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES
¿Existe efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica rapa L.*)?	**Objetivo general** Evaluar el efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.). **Objetivos específicos** • Determinar el efecto del pH de solubilización en el rendimiento de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.). • Determinar el efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica* rapa L.).	Existe efecto del pH de solubilización en las propiedades funcionales de la proteína aislada de nabo silvestre (*Brassica rapa L.*).	**V. Independiente:** pH de extracción **V. Dependiente:** Rendimiento • Propiedades funcionales ✓ Densidad aparente ✓ Densidad compacta ✓ Índice de Carr ✓ Ratio de Hausner ✓ Índice de Solubilidad en agua ✓ Índice de absorción de agua ✓ Capacidad de retención de aceite ✓ Capacidad formación de espuma ✓ Capacidad de gelificación ✓ Capacidad emulsificante

Apéndice 02. Resultados experimentales.

Tabla 1

Datos de rendimiento de extracción de PASNS a diferentes pH.

N°	pH	Rendimiento	N°	pH	Rendimiento
1	7	18,60	7	9	55,00
2	7	17,88	8	9	57,20
3	7	17,16	9	9	52,80
4	8	69,55	10	10	36,25
5	8	66,88	11	10	34,80
6	8	64,20	12	10	37,70

Tabla 2

Datos de densidad aparante y compacta de proteína aislada de semilla de nabo a diferentes pH

pH	Densidad Aparente (g/mL)	Densidad Compacta (g/mL)
7	0,343	0,606
7	0,357	0,560
7	0,371	0,583
8	0,599	0,756
8	0,553	0,727
8	0,576	0,698
9	0,673	1,058
9	0,621	0,976
9	0,647	1,017
10	0,499	0,731
10	0,461	0,675
10	0,480	0,703

Tabla 3

Datos de índice de solubilidad agua - proteína aislada a diferente pH de extracción

N°	pH	ISA	N°	pH	ISA
1	7	0,150	7	9	0,166
2	7	0,163	8	9	0,206
3	7	0,168	9	9	0,230
4	8	0,237	10	10	0,121
5	8	0,229	11	10	0,119
6	8	0,232	12	10	0,119

Tabla 4

Datos de índice de absorción de agua de proteína aislada a diferente pH de extracción

N°	pH	IAA	N°	pH	IAA
1	7	1,191	7	9	1,670
2	7	1,155	8	9	1,723
3	7	1,202	9	9	1,575
4	8	1,068	10	10	1,479
5	8	1,213	11	10	1,591
6	8	1,201	12	10	1,610

Tabla 5

Datos de capacidad de retención de aceite de proteína aislada

N°	pH	CRA	N°	pH	CRA
1	7	1,046	7	9	0,797
2	7	0,950	8	9	0,942
3	7	1,017	9	9	0,857
4	8	0,946	10	10	1,075
5	8	1,048	11	10	1,054
6	8	0,733	12	10	1,007

Tabla 6

Datos de capacidad de formación de espuma de proteína aislada de semilla de nabo

N°	pH	CFE	N°	pH	CFE
1	7	4,55%	7	9	8,49%
2	7	5,26%	8	9	9,52%
3	7	5,00%	9	9	13,21%
4	8	4,55%	10	10	9,52%
5	8	9,09%	11	10	9,52%
6	8	4,55%	12	10	14,29%

Tabla 7

Datos de capacidad emulsificante de proteína aislada de semilla de nabo

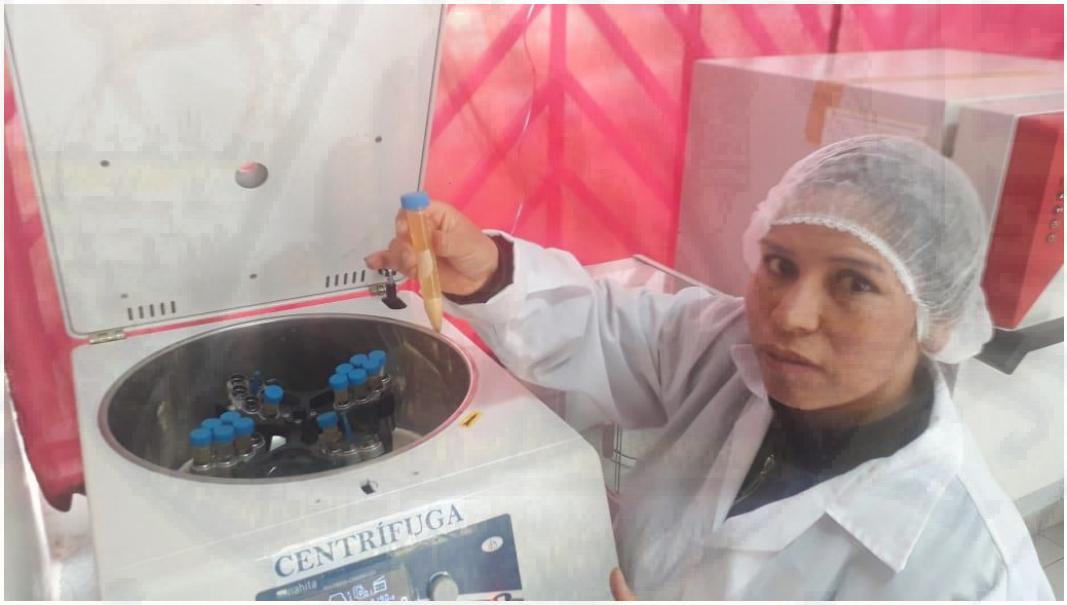
pH	CE	pH	CE
7	106,79%	9	130,54%
7	111,87%	9	127,14%
7	107,63%	9	128,84%
7	111,87%	9	130,54%
8	104,24%	10	106,79%
8	106,79%	10	114,42%
8	105,09%	10	105,09%
8	105,09%	10	109,33%

Apéndice 03. Testimonio fotográfico.

Fotografía 01. Pesado de la torta de semilla de nabo.

Fotografía 02. Precipitación alcalina de la proteína de la semilla de nabo.

Fotografía 03. Obtención de la proteína aislada de la semilla de nabo.



Fotografía 04. Centrifugación para la obtención de la proteína aislada de la semilla de nabo.

Fotografía 05. Proteína aislada de la semilla de nabo – Obtención final.

Apèndice 04. Certificado de Análisis de Laboratorio.