

# Estudio de las propiedades físicas y funcionales de un hidrolizado enzimático de proteína de chocho a escala piloto y su aplicación como fertilizante

Oswaldo Acuña y Carla Simbaña

*Departamento de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología (DECAB)*

oswaldo.acuna@epn.edu.ec

## Resumen

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar un hidrolizado enzimático de proteína de chocho integral (*Lupinus mutabilis*) obtenido por vía enzimática. La hidrólisis fue catalizada por una mezcla secuencial de enzimas comercial grado Papaína y Flavourzima. El rendimiento en hidrolizado proteico alcanzado es del 73 % en base al aislado.

La hidrólisis proteolítica concentra la cantidad de proteína 83 % partiendo del aislado 71,3 %. En la hidrólisis enzimática se eliminan carbohidratos solubles y ácidos grasos. El grado de hidrólisis alcanzado es moderado (8 %). Los resultados de los análisis de las propiedades funcionales: solubilidad, absorción de agua, absorción de aceite, viscosidad, son afectados por la presencia de carbohidratos, ácidos grasos y alcaloides, situación que resulta al comparar con los resultados obtenidos cuando se utiliza harina de lupinus desengrasada y desamargada.

Los resultados del análisis foliar indican 90 % de materia orgánica con un nitrógeno total del 8.9 %, fósforo (0,7 %), potasio (0.8 %), además de micro elementos destacando calcio y magnesio, composición que posibilita su uso como fertilizante. Los resultados del ensayo experimental como fertilizante aplicado en plántulas de brócoli revelan un incremento del 18.6 % del perímetro foliar no existe diferencia significativa al 0.05 % en la altura del tallo, frente a un testigo que no fue aplicado el hidrolizado.

**Palabras claves:** Hidrolizado, Propiedades Funcionales, Fertilizante.

## Abstract

The aim of this study was to characterize a protein hydrolyzate integral chocho (*Lupinus mutabilis*) obtained enzymatically. The hydrolysis was catalyzed by a mixture sequential enzyme papain and Flavourzima commercial grade. The hydrolyzed protein yield achieved is 73 % based on isolation.

Proteolytic hydrolysis the amount of protein concentrates 83 % starting from 71.3 % isolated. In the enzymatic hydrolysis removes soluble carbohydrates and fatty acids reached the degree of hydrolysis is moderate (8 %). The results of the analysis of functional properties: solubility, water absorption, oil absorption, viscosity, are affected by the presence of carbohydrates, fatty acids and alkaloids, a situation that results when comparing with the results obtained when using lupine flour degreased and debittered.

Foliar analysis results indicate 90 % of organic matter with a 8.9 % total nitrogen, phosphorus (0.7 %), potassium (0.8 %), plus trace elements calcium and magnesium highlighting, composition enabling its use as fertilizer. The test results experienced as fertilizer applied to broccoli seedlings show an increase of 18.6 % of the leaf perimeter no significant difference at 0.05 % at the height of the stem, against a witness who was not applied to the hydrolyzate.

**Keywords:** Hydrolyzed, Functional Properties, Fertilizer.

## 1 Introducción

Los aminoácidos son algunos elementos básicos para la vida de todo ser vivo, ya que contienen C, H, O, S y N enlazados de forma que su unión forma estructuras básicas en la célula de un ser vivo, las proteínas [3].

Los aminoácidos libres son sustancias nutritivas de fácil absorción y asimilación tanto por vía foliar como radicular, transportándose rápidamente a los órganos del

vegetal en los que existe una mayor demanda debido a su actividad. Los aminoácidos tienen una importante actividad biocatalizadora de reacciones enzimáticas, activando la síntesis de fitohormonas, así como un importante papel como nutriente directo de fácil asimilación que no es necesario metabolizar [3].

Las transformaciones de aminoácidos en nuevos

aminoácidos así como otras reacciones bioquímicas son reguladas por hormonas y principalmente por las enzimas que juega el papel de catalizadores biológicos. Los hidrolizados de proteína parece ser que afectan de algún modo positivo a estos mecanismos [3].

Los aminoácidos libres y los hidrolizados de proteína no sólo constituyen un nutriente, sino que son un factor regulador del crecimiento debido a su:

- Rápida absorción y traslación de los aminoácidos por las pares aéreas de la planta.
- Fácil metabolización.
- Función alimenticia y poder catalizador y regulador del crecimiento actuando en los mecanismos enzimáticos fundamentales.
- Mejora la polinización de los frutos.
- Resistencia a estrés hídrico, heladas y sequías de las plantas.
- Transportadores de los microelementos [5].

Las propiedades físico-químicas de los fertilizantes determinan tanto su comportamiento en el suelo, como su manipulación y conservación. Destacan las siguientes:

- Grado.** Principal indicador de calidad química y agronómica de un fertilizante. Es el porcentaje del o de los elementos primarios en el fertilizante, básico para la selección de las fuentes de nutrientes.
- Solubilidad.** La solubilidad en agua es determinante sobre el contenido de cada elemento nutritivo en un fertilizante concreto.
- Absorción de agua.** Esta absorción puede provocar que una parte de las partículas se disuelvan, con lo que se deshace la estructura física del fertilizante.
- Granulometría.** Importante en el manipuleo y la aplicación del producto, como así también en confección de mezclas físicas secas (Torres 2007).
- Capacidad emulsionante y Estabilidad de la emulsión.** Permite la elaboración de mezclas de fertilizantes con productos que no se mezclen con agua.
- Capacidad y Estabilidad de Espuma.** Permite la formación de mezclas sin espuma facilita la carga de los depósitos de aspersión [1].

Frente a la necesidad de disminuir la dependencia de productos químicos en los distintos cultivos, se busca alternativas fiables y sostenibles, como la elaboración de hidrolizados enzimáticos proteicos que promuevan el desarrollo de la agricultura orgánica, reduciendo los impactos medioambientales que tiene la agricultura con insumos agroquímicos [2].

## 2 Materiales

- Harina de chocho (*Lupinus Mutabilis*) proveniente de la molienda de semillas adquiridas en el mercado Mayorista de la ciudad de Quito.
- Aislado de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis*), obtenido bajo las condiciones experimentales a nivel semi-piloto.
- Enzimas comerciales: endopeptidasa vegetal papaína y la exopeptidasa bacteriana flavourzyme.
- Acido Clorhídrico 6 N
- Hidróxido del Sodio 5 N
- Aceite Comestible "La Favorita"
- Cloruro de Sodio

## 3 Métodos

### 3.1 Elaboración de harina cruda integral de chocho

**Limpieza, clasificación, selección, molienda.** Las semillas fueron sometidas a limpieza clasificación y selección, el material sano fue sometido a molienda por impacto utilizando un molino Alpine preinstalado con aditamento de clavos.

**Caracterización física de la harina cruda.** Se determinó el tamaño de partícula de la harina cruda por tamizado utilizando una serie de tamices U.S.A. Standard Testing Sieve Nos. 4, 10, 20 y 40 con un tiempo de agitación de 30min.

### 3.2 Obtención del aislado proteico

La obtención se realizó a nivel semipiloto, empleando 1,5kg por batch de harina integral, que contiene toda la grasa, cáscara y alcaloides, mediante los siguientes procesos:

**Extracción básica.** Se realizó una suspensión harina-agua con una relación sólido/líquido 1:11 (p/v), se homogenizó la suspensión y se llevó a pH 10,5 con NaOH 5N, se agitó la mezcla durante 30min, al término del cual se centrifugó a 12000rpm en la centrífuga Westfalia tipo LWA 205. El sobrenadante fue almacenado y el precipitado fue sometido a una segunda extracción, se resuspendió con agua en una relación sólido líquido 1:5 (p/v), se agitó y centrifugó a las mismas condiciones de la primera extracción, y se recolectó el sobrenadante.

**Precipitación ácida.** Los sobrenadantes de la primera y segunda extracción básica se mezclaron y se ajustó a pH 4.5, punto isoeléctrico de las principales proteínas de leguminosas, con HCl 6N, precipitando la proteína, se centrifugó a 12000rpm en la centrífuga Westfalia y obteniéndose el aislado proteico que fue neutralizado, secado por liofilización y almacenado en recipiente hermético hasta su uso.

### 3.3 Obtención del hidrolizado enzimático de proteína de chocho

Para la obtención de hidrolizados a escala semi piloto se realizó la reacción proteolítica secuencial de endo y exopectidasas a las siguientes condiciones:

**Hidrólisis enzimática del aislado proteico.** Se llevo a cabo en una marmita de doble fondo con capacidad de 20 litros, calentada con vapor y termostatizado a 50°C, con un agitador mecánico de hélice Fisher Scientific. Se disolvió el aislado en agua destilada a una relación 1 : 6.25 (p:v). Se llevó a pH a 7.0 con NaOH 6N, y la temperatura a 50 °C, se incorporó la papaína a una relación enzima/sustrato de 0.32 UA/g de sustrato (34,7mg) el tiempo de reacción fue de 15min. Regulado el pH a 7.0, se incorporó la flavourzima, en una relación enzima/sustrato de 43,41 mL de flavourzima que equivale a 178 UPAL/L de aislado (1 UPAL equivale a 1 gramo de flavourzima), el tiempo de la reacción proteolítica fue de 60 min. La detención de la reacción enzimática se realizó inactivando las enzimas a temperatura de ebullición durante 10 min. El hidrolizado fue congelado liofilizado y almacenados en recipientes herméticos.

**Grado de hidrólisis.** El grado de hidrólisis se determinó mediante el método descrito por Kim et al., (1990), midiendo la proteína soluble de las muestras tratadas con ácido tricloroacético (TCA) al 10 %. La hidrólisis ácida de la proteína total se realizó mediante el método descrito por Wilchek y Miron, 2003. Tanto la proteína soluble en el sobrenadante como la proteína total fueron determinadas espectrofotométricamente a 280nm. El grado de hidrólisis está dada, como: Grado de hidrólisis (%) =  $100 \times (\text{Proteína soluble en TCA (10\%)} / \text{Proteína total})$ .

### 3.4 Caracterización química de los materiales

La proteína total, humedad, cenizas, fibra, extracto etéreo se determinó en la harina integral, aislado proteico e hidrolizado aplicando las técnicas analíticas descritas en los métodos oficiales de la A.O.A.C., 2005.

### 3.5 Determinación de las propiedades físicas y funcionales del hidrolizado

Las propiedades funcionales, definidas como aquellas características que proporcionan información del com-

portamiento de las proteínas, en la preparación, procesamiento, almacenamiento y consumo de los alimentos (Chol y col. 1981).

**Granulometría.** El perfil granulométrico se determinó en un set de tamices U.S.A. Standard Testing Sieve Nos. 20, 40, 50, 80, 100, 140, en un tamizador Portable Sieve Shaker Model RX- 24 con un tiempo de agitación de 10min.

**Densidad.** La densidad del hidrolizado enzimático se determinó pesando una muestra colocada en un volumen determinado.

**Solubilidad.** El perfil de solubilidad, se determinó según el método 46-23 de la A.A.C.C. (1984), se preparó una suspensión al 2%(P/V) en 25mL de agua destilada, ajustando el pH, a valores de 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, usando NaOH 1N o HCl 1N según el caso, se agitó durante 30min, se centrifugó a 4000rpm durante 15min. Se determinó el contenido de proteína por el método Kjeldahl en los sobrenadantes, método descrito por Sathe, et al. 1982.

**Absorción de agua.** La absorción de agua se determinó por el método Naezk (1985). Consiste en preparar una suspensión de 2g de muestra en 16mL de agua destilada, se homogeniza agitando por 5min, se ajusta el pH a 2, 4, 6, 8 y 10 por adición de NaOH 1N y HCl 1N, según el caso, se agita por 30min y se centrifuga a 3000rpm por 10min. Se desechó cuidadosamente el sobrenadante, y el tubo es invertido por 10min. La capacidad de retención de agua se obtiene aplicando la siguiente relación:

$$\text{Capacidad de retención de agua} = \frac{\text{Peso del pellet hidratado} - \text{Peso de muestra (base seca)}}{\text{Peso de muestra (base seca)}}$$

**Absorción de aceite.** Se preparó 6 suspensiones de 2g de muestra y 12mL de aceite comestible, se agitó en una plancha magnética por tiempos de 5, 10, 15, 20, 25, 30min al término de los cuales se centrifugaron a 3000rpm por 15min. El aceite retenido se determinó a partir de la siguiente relación:

$$\text{Capacidad de retención de aceite} = \frac{\text{Peso de l pellet hidratado} - \text{Peso de muestra (base seca)}}{\text{Peso de muestra (base seca)}}$$

**Capacidad de formación y estabilidad de espuma.** Se siguió el método sugerido por Chau et al, 1977. Se determinaron los efectos de la concentración, el pH y la fuerza iónica sobre la capacidad de formación de espuma y se evaluó el tiempo de estabilidad en todos los casos.

El efecto de concentración se determinó preparando suspensiones de proteína de 2, 4, 6, 8 y 10 % (p/v), ajustadas a pH 6.0. El efecto de pH se evaluó preparando suspensiones de proteína al 2 % y ajustando el pH a valores de 2, 4, 6, 8 y 10 con NaOH 1N y HCl 1N, según sea el caso.

La fuerza iónica se determinó mediante la adición de NaCl (sal), a concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 y 2 % (p/v), en suspensiones de proteína al 2 % y ajustadas a pH 6.0.

Se preparó suspensiones de proteína para cada caso (50mL), se homogenizó en una licuadora Osterizer a 2000rpm durante 5min, el contenido final se trasvasó a una probeta graduada y se midió el volumen de espuma después de 30s. El resultado se expresó como el incremento de volumen en porcentaje, y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IV \% = \frac{Vf - Vo}{Vo} \times 100.$$

La estabilidad de espuma se evaluó para cada caso, y se determinó como la disminución de volumen de espuma y líquido drenado, para tiempos de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 14 y 24h.

Se preparó una suspensión de proteína al 1,5 % de proteína y homogenizar por 5min en una licuadora Oster. Se registra el volumen de espuma luego de 30s. Expresar el resultado como el incremento de espuma, después de 30s. Determinar la estabilidad de la espuma como el incremento del volumen de espuma después de 5, 30 y 120min.

**Capacidad de formación de emulsión.** Se determinó por el procedimiento descrito por Chau, et al, 1997 a pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0. Se preparó una suspensión de proteína al 2 % (p/v), se ajusta el pH. Se emulsificó la muestra a 2000rpm por 2min en una licuadora Oster. Se añade 100mL de aceite vegetal y se homogeniza por un minuto más. Se centrifuga graduados a 1200g por 5min y se determina el volumen de emulsión. La actividad emulsificante fue calculada con la siguiente fórmula:

$$AE \% = 100 \times \frac{\text{Volumen de capa emulsificada}}{\text{Volumen de toda la capa}}.$$

**Estabilidad de la emulsión (EE).** Fue determinado preparando 100mL de una suspensión de proteína al 2 % (p/v), se ajusta el pH, se homogeniza a 2000rpm por 2min a la cual se le adiciona gota a gota, 100mL de aceite manteniendo la agitación. Se calienta a 80°C por 30min y se enfría a temperatura ambiente, centrifugándose la muestra en tubos graduados a 1200rpm por 5min, midiéndose el volumen de la emulsión. La estabilidad emulsificante se calculo aplicando la siguiente relación:

$$EE \% = 100 \times \frac{\text{Volumen de capa emulsificante remanente}}{\text{Volumen de emulsión original}}.$$

**Viscosidad.** Se determinó por el método INEN 1013-1983-4, utilizando un viscosímetro digital de Brookfield Engineering MA 02072 USA, con el eje small UL adapter. Se preparó suspensiones del 8,10, 12, 16, 18 y 20 % (p/v), en las que permiten determinar la concentración ideal. Se determina el efecto de la temperatura (20, 30, 40, 50°C) y del pH en el rango de 2, 4, 6, 8, 10 sobre la viscosidad.

### 3.6 Aplicación del hidrolizado enzimático de proteína de chocho como fertilizante

La aplicación del hidrolizado obtenido por reacción enzimática secuencial se aplico en plántulas de brócoli variedad Brassica oleracea de 14 días de germinación bajo condiciones de invernadero (HR 70 % y Temperatura 25°C) en la empresa Pilvicsa. El ensayo se realizo bajo el diseño experimental de bloques a lazar manteniendo un testigo previsto para este ensayo consta de:

- El primer grupo, se adicionó el hidrolizado de proteína de chocho a la fertilización regular.
- El segundo grupo fue el testigo y se aplico la fertilización regular.

El ensayo tuvo una duración de tres semanas la dosis aplicada fue de 2g/L. Los controles de la aplicación fueron la medición de la altura y diámetro del follaje en cada semana de aplicación. El análisis de datos fue realizado en el programa estadístico Statgraphics.

## 4 Resultados y discusión

### 4.1 Obtención del aislado de proteína de chocho

**Tabla 1.** Análisis proximal del aislado enzimático de proteína de chocho

Determinación	Contenido en 100g
Humedad	5,83
Proteína (Nx6.25)	71,31
Extracto Etéreo	10,90
Cenizas	3,35
Fibra Cruda	1,65
Carbohidratos	12,79

En la tabla 1 se presenta el análisis proximal del aislado de proteína de chocho. El contenido de proteína del aislado fue 71.31 %. El contenido de extracto etéreo se mantiene en niveles cercanos al contenido en harina integral (16,56 %). Hay una disminución del 34 % durante la centrifugación, separándose una fracción de lípidos que son retirados.

El valor de proteína se incrementa en el 53,05 % en relación al contenido de la harina; en tanto que los carbohidratos disminuyen en un 49,06 % en referencia a la



materia prima harina integral y además por no haberse realizados lavados durante su elaboración evitando así la pérdida de alcaloides.

El porcentaje de recuperación de proteína es del 24,49 % con respecto a la harina integral.

#### 4.2 Obtención del hidrolizado enzimático de proteína de chocho

El hidrolizado enzimático de proteína de chocho alcanzó un grado de hidrólisis (GH) del orden de 8 %, valor que indica que el hidrolizado posee propiedades funcionales apropiadas [4].

**Tabla 2.** Análisis proximal del hidrolizado enzimático de proteína de chocho

Determinación	Contenido en 100g
Humedad	2,84
Proteína(Nx6.25)	83,00
Extracto Etéreo	8,30
Cenizas	5,82
Fibra Cruda	1,83
Carbohidratos	1,05

**Tabla 3.** Contenido de aminoácidos en 100 gramos de hidrolizado de proteína de chocho

Aminoácidos	C1	C2	C3
Ácido aspartico	6.25	12	Nd
Treonina	2.04	3,9	3,00
Serina	3.28	5,8	Nd
Acido glutámico	15.5	23.4	Nd
Prolina	2.17	3,9	Nd
Glicina	2.64	4,2	Nd
Alanina	2.07	3,3	Nd
Cistina	0.77	0.3	Nd
Valina	2.37	3,2	3,90
Metionina	0.25	0,5	0.50
Isoleucina	2.78	5,1	Nd
Leucina	4.03	8,5	14.20
Tirosina	2.34	4.3	Nd
Fenilalanina	2.47	3,3	3,90
Histidina	1.77	2.8	Nd
Lisina	3.56	5,3	4,90
Arginina	1.91	11	9,90
Triptófano	0.41	0,7	0,80

C1: Hidrolizado Enzimático en harina integral

C2: Hidrolizado Enzimático en harina desengrasada y desamargada [8]

C3: Hidrolizado ácido de lupino (Acuña, P., 2001).

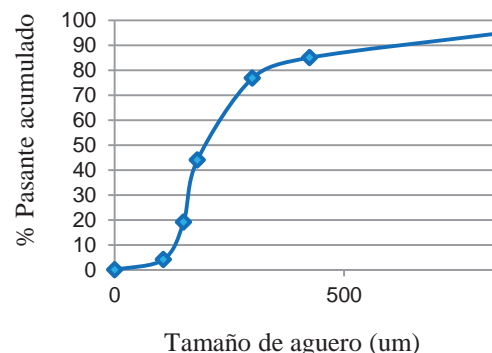
En análisis proximal de la tabla 2, se observa que las cenizas se incrementa en un 73,73 % respecto al aislado, debido a la formación de sales cloruros, siendo necesario realizar lavados al aislados o realizar una diálisis antes del proceso proteolítico. Con relación al contenido de proteína esta se incrementa en un 16,39 % con respecto al aislado.

El perfil de aminoácidos del hidrolizado enzimático de proteína de chocho en la tabla 3. Además se presentan los resultados del análisis aminoácidos del hidrolizado enzimático de harina integral, harina desengrasada y desamargada y el hidrolizado ácido de chocho. Observando los datos alcanzados en que las concentraciones son menores a las referencias debido a que en el hidrolizado enzimático se realizo a partir de harina integral que contienen alcaloides grasa

Se destaca la concentración cistina y metionina que supera a las referencias en el 22 %, contribuyendo al aporte de azufre.

#### 4.3 Determinación de las propiedades físico químicas

**Granulometría.** Mediante el análisis de granulometría del hidrolizado de proteína de chocho se determino el tamaño de partícula +malla astm 80 y -malla astm 140 como se muestran en la figura 1.



**Figura 1.** Tamaño de partícula del hidrolizado de proteína de chocho

**Densidad.** El hidrolizado enzimático de proteína de chocho es un polvo muy fino que tiene una densidad aparente de 0.27g/cm<sup>3</sup> todos los valores de densidad son menores a la densidad del agua.

**Solubilidad.** El perfil de solubilidad mejoró en los diferentes rangos de pH, no se formaron agregados voluminosos en el punto isoelectrico de la proteína, alcanzó un máximo de 89.0%. El aumento en la solubilidad está relacionado con el balance de elementos hidrofóbicos e hidrofílicos presentes; poseen más residuos de aminoácidos polares que incrementan la hidrofiliidad al favorecer la formación de puentes de hidrógeno con el agua (Sathivel et al., 2005).

En la figura 2 se presentan los datos de solubilidad, expresados como el porcentaje de proteína soluble, para el hidrolizado y aislado de proteína de chocho en el intervalo de pH de 3.0 a 7.0.

La solubilidad de un fertilizante es la cantidad máxima del fertilizante que puede ser completamente disuelto en una cantidad determinada de agua destilada en una temperatura dada [1].

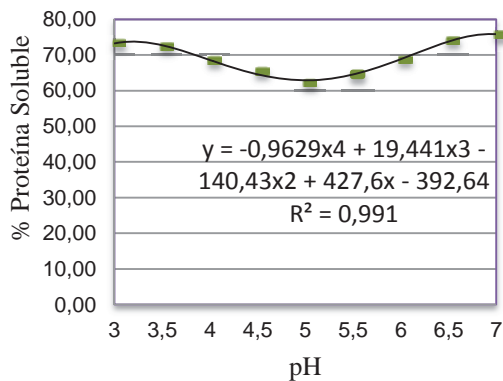


Figura 2. Perfil de solubilidad del hidrolizado enzimático de proteína de chocho

**Absorción de agua.** En la figura 3, se presenta los valores de absorción de agua registrados en el hidrolizado. Se observa que la absorción máxima de agua se incrementa en un 50,6% a pH 5 debido a que existe un equilibrio de cargas en el pHs cercanos al punto isoeléctrico. Presenta un valor mínimo a pH 7 de 46% con relación al registrado a pH 3,5 debido a la interacción proteína-lípidos (14,5%), exponiendo más a los sitios polares para una interacción agua y los lípidos presentes en el hidrolizado [10].

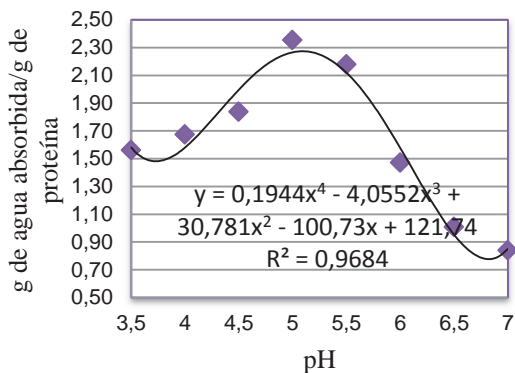


Figura 3. Capacidad de absorción de agua a diferentes rangos de pH del hidrolizado

La máxima absorción de agua que presenta el hidrolizado a pH 5.0 es de 2,35g de agua absorbida/g de proteína mientras pH 7.0 es de 0,83g de agua absorbida/g de proteína esto puede provocar que una parte de las partículas se disuelvan, con lo que se deshace la estructura física del fertilizante (Torres, 2007).

**Absorción de Aceite (Aac).** El hidrolizado proteico presenta una capacidad máxima al alcanzar el equilibrio de 1.72g aceite absorbido/g proteína a los 20min de exposición.

**Capacidad de formación y estabilidad de espuma.** Las espumas formadas se determino que las espumas más estables fueron a concentraciones del 8 y 10%, permanecen estables hasta un tiempo superior a los 120min pero tiempo al que todas las espumas formadas a partir

de hidrolizados colapsan totalmente, y a que los péptidos no disminuyen la tensión interfacial de las películas formadas por la proteína adsorbida en la interface aire-agua son finas y la estabilidad es mínima.

La evolución del incremento de volumen de la espuma en función de la concentración del hidrolizado se indica en la figura 4.

**Capacidad de formación emulsión** En la figura 5 se presenta el efecto del pH sobre la estabilidad de la emulsión del hidrolizado expresados en mL de aceite separado por gramo de proteína, obteniendo un valor de 49,4% de estabilidad de emulsión a pH 6.0, siendo este el máximo valor y a partir de este se mantienen relativamente constante, debido a la facultad de reducir las tensiones interfaciales entre componentes hidrofóbicos e hidrofílicos.

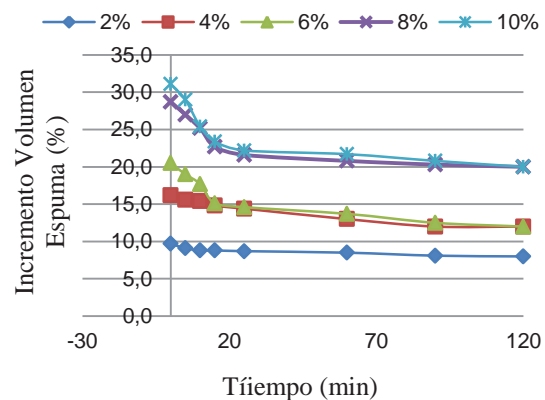


Figura 4. Efecto de la concentración sobre la estabilidad de la espuma del hidrolizado

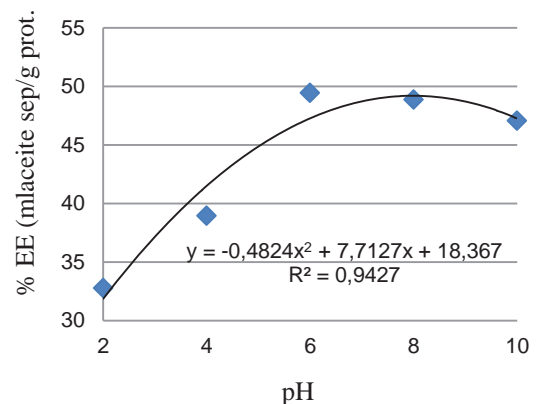


Figura 5. Efecto del pH sobre la capacidad de formación de la emulsión del hidrolizado proteico de chocho

**Estabilidad de Emulsión.** Esta propiedad está ligada a la solubilidad de la proteína con el agua. La estabilidad a la concentración proteica (óptimo 2%) con valores del 43,52%. Son frecuencias mínimas a pH ácidos (Linden y Lorient, 1996), presentando la mayor estabilidad a pH 4.0 debido a la presencia de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, como se observa en la figura 6.

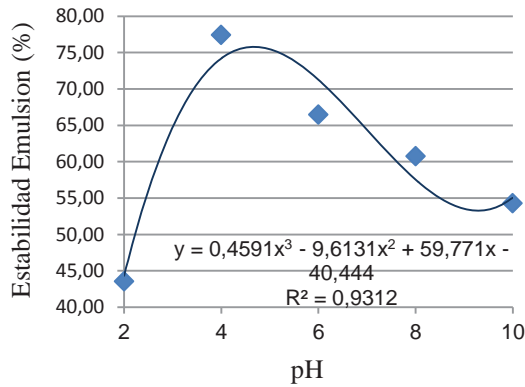


Figura 6. Efecto del pH sobre la estabilidad de la emulsión del hidrolizado proteico de chocho

**Viscosidad.** En la figura 7 se muestra la tendencia exponencial de la viscosidad en función de la concentración del hidrolizado, típica de esta propiedad debido a que el desdoblamiento de las moléculas proteicas por efecto de la hidrólisis, aumenta la exposición de los grupos reactivos, en especial de los grupos hidrófobos de las proteínas globulares. Nakai, (1983), además la masa molecular elevada a causa de las interacciones proteína-proteína y un fuerte porcentaje de aminoácidos hidrófobos favorecen la formación de redes compactas, incrementando el coeficiente de viscosidad de las dispersiones proteicas.

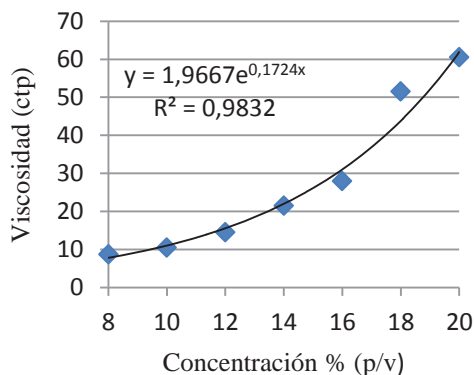


Figura 7. Influencia en la viscosidad de la concentración del hidrolizado

Según Harper y Hall (1976) indican que hay un incremento en la viscosidad, con el aumento de sólidos como grasa y carbohidratos.

**Influencia de la temperatura.** Se puede observar en la figura 8 que los valores de la viscosidad del hidrolizado son inversamente proporcionales al incremento de la temperatura a diferentes temperaturas, los valores determinados decrecen la viscosidad del 60,41 % a 50°C con respecto a los 20°C.

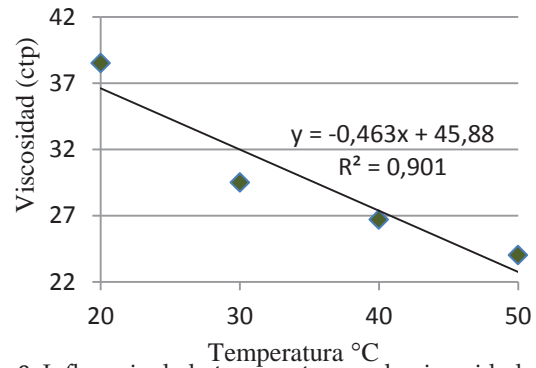


Figura 8. Influencia de la temperatura en la viscosidad del hidrolizado

**Influencia del pH.** La figura 9 presenta la influencia del pH en la viscosidad sobre el hidrolizado de chocho encontrándose el valor de 5,25ctp a pH 4.0 debido a la ausencia de fuerzas repulsivas conduce a la formación de un gel menos expandido, con baja capacidad hidratante y por lo tanto menos consistente.

Kim et al, (1990). A valores inferiores y mayores a pH 4.5 los valores se incrementan debido a la concentración de ácidos grasos, carbohidratos presentes en el hidrolizado.

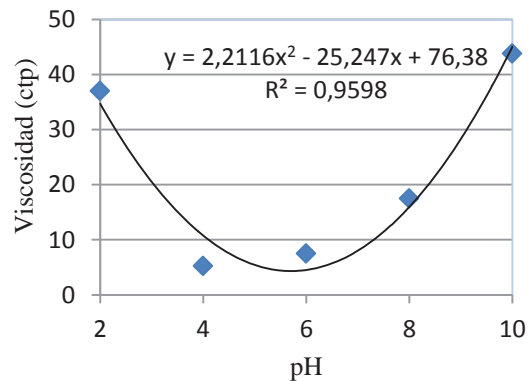


Figura 9. Influencia de la temperatura en la viscosidad del hidrolizado

**Aplicación del hidrolizado de proteína de chocho como fertilizante foliar.** En la tabla 4 se presenta la ficha técnica del hidrolizado enzimático de proteína de chocho.

Los resultados del análisis químico foliar del hidrolizado enzimático se indican en la tabla 5, destacándose el material orgánico (M.O) 90,49 % con un nitrógeno total del 8,88 %, valores que indican el fraccionamiento de la proteína en aminoácidos y péptidos y que contienen además de nitrógeno, carbono, ácidos grasos y alcaloides.

Es un fertilizante nutricionalmente completo contiene hasta calcio 0,33 % y magnesio 0,07 %, los nutrientes son fácilmente absorbidos por las hojas. Esto se debe a que el nitrógeno proveniente de una proteína vegetal.

Tabla 4. Ficha técnica del hidrolizado enzimático de la proteína de chocho

Aspecto	Granulado
Estado físico	Solido
Color	Blanco-crema
Olor	Característico de los hidrolizados
Punto de fusión	No aplica
Punto de ebullición	No aplica
pH	7,0
Densidad	0.27 g/cm <sup>3</sup>
Solubilidad	Totalmente soluble en agua
Propiedades explosivas	No presenta propiedades explosivas
Propiedades oxidantes	No presenta propiedades oxidantes

Tabla 5. Análisis foliar del hidrolizado enzimático de la proteína de chocho

Expresión	
Cenizas	0,10 %
M.O.	90.49 %
N.T.	8,88 %
P	0,69 %
K	0,80 %
Ca	0,33 %
Mg	0,07 %
Fe	135 ppm
Mn	20,5 ppm
Cu	< 50 ppm
Zn	48,5 ppm

La prueba de significancia de Tukey al 0,05 % indico que el tratamiento con hidrolizado de chocho provoca un aumento en el perímetro foliar frente al testigo 18,6 % de incremento. Mientras en la altura no hubo diferencias significativas al 0,05 % entre el tratamiento con hidrolizado y el testigo.

## 5 Conclusiones

1. La conversión de harina integral a aislado es del 32 % valor interesante dentro del ámbito de las leguminosas; mientras en el hidrolizado hay una conversión del 73 % en base al aislado.
2. Los fertilizantes constituidos por aminoácidos en el mercado es amplia pero la mayoría provienen de hidrólisis ácida y de proteína de origen animal debido a este se procede a buscar una nueva alternativa utilizando hidrolizado enzimático de proteína vegetal (lupino).

3. La importancia del estudio de las propiedades físicas, químicas y funcionales que permiten determinar el valor agronómico del fertilizante variara según el tipo de cultivo, la época de cultivo y la forma de aplicación.
4. Se hace necesario realizar un análisis de costos de la obtención de hidrolizados para hacer comparados con los hidrolizados químicos.

## Referencias

- [1] Agrex, F., 2008, *Coadyuvante no-iónico multifuncional*, <http://www.agroenzymas.com/esp/descargas/coadyuvantes.pdf>, (Enero, 2010)
- [2] Agroin, 2007, *Aminoácidos y Péptidos*, Madrid, España, <http://www.terralia.com/tecnico@agroin.es>, (Enero, 2010).
- [3] Carbone, 2009, <http://www.ccarbo.com/descargar/fichas%20tecnicas/Bio%20Plant%20%20AminoAlpha.pdf>, (junio,2010)
- [4] Benítez R., Ibarz A., Pagan J., *CProtein hydrolysates: processes and applications Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; 42 (2): 227-36.
- [5] Espasa R., 2007, *La fertilización foliar con aminoácidos*, [http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_Hort/Hort\\_1983\\_12\\_33\\_35.pdf](http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Hort/Hort_1983_12_33_35.pdf) (Agosto, 2009).
- [6] Linden, G.y Lorient, D., 1996, *CBioquímica Agroindustrial*, Acribia S.A., Zaragoza, España, p. 174.
- [7] Mosquera, E., 1997, *Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (lupinus mutabilis) a escala semi-piloto. Determinación de las propiedades químicas y funcionales*, Proyecto de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniera Química, EPN, Quito, Ecuador.
- [8] Villacrés, E. 2001, *Obtención de hidrolizado de enzimático de alta funcionalidad a partir del chocho (lupinus mutabilis sweet)*. Tesis de Maestría, EPN, Quito, Ecuador.
- [9] Wilchek, M. y Miron, T., 2003, *Oriented versus random protein immobilization*. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 55, 67-70.
- [10] Wilmont B. y Wijeratne1., 2005, *Propiedades funcionales de las proteínas de soya en un sistema de alimentos*. Programa INTSOY (International Soybean Program) Universidad de Illinois, Estados Unidos.