



SECCIÓN ARTÍCULOS ORIGINALES
REVISTA UNIVERSIDAD Y SALUD
Año 2012 Vol. 14(2) Págs. 161 - 167

Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*)

Obtaining a protein extract from chachafruto flour (*Erythrina edulis*)

Oscar Arango Bedoya¹, Valery Bolaños Patiño², Diana Ricaurte García³, Marcela Caicedo⁴, Yulieth Guerrero⁵

1. Ingeniero Agroindustrial, M.Sc. Ciencia de los Alimentos, M.Sc. Ingeniería Ambiental, Profesor Asociado, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. e-mail: oscar769@hotmail.com
2. Estudiante séptimo semestre Programa Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. e-mail: vale18b@hotmail.com
3. Estudiante séptimo semestre Programa Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. e-mail: dianayazmin.d@gmail.com
4. Estudiante séptimo semestre Programa Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. e-mail: marcelita29035@hotmail.com
5. Estudiante séptimo semestre Programa Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño. e-mail: julia-yis@hotmail.com

Fecha de recepción: Marzo 29 - 2012

Fecha de aceptación: Diciembre 18 - 2012

Arango Bedoya O, Bolaños Patiño V, Ricaurte García D, Caicedo M, Guerrero Y. Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). Rev Univ. salud. 2012; 14(2):161 - 167

RESUMEN

El chachafruto (*Erythrina edulis*) es una leguminosa con un amplio espectro de usos, que van desde la alimentación humana (la semilla) y animal (el forraje) hasta la recuperación de nitrógeno en el suelo. Su principal función está relacionada con la seguridad alimentaria debido al alto contenido de proteínas, además de vitaminas y minerales. En esta investigación se estudió el rendimiento de obtención de un aislado proteico a partir de harina de semillas de chachafruto mediante la técnica de extracción por solubilidad, analizando el efecto de los factores relación harina: solvente y tiempo de solubilización. La cuantificación de proteínas se realizó por el método de Kjeldahl. En la harina de chachafruto se obtuvo un contenido de humedad de 8,37% y de proteína de 18,4%. De acuerdo con su grado de solubilidad en diferentes solventes, las fracciones mayoritarias encontradas en la proteína de la harina fueron glutelinas y albúminas. La relación harina: solvente y el tiempo de solubilización tuvieron efectos significativos ($P < 0,001$) sobre el rendimiento de extracción, obteniéndose un máximo de 62% de extracto proteico con un tiempo de 60 min y una relación harina: solvente de 1:40. Los resultados demuestran que es posible obtener proteínas de alto valor a partir de las semillas del chachafruto, las cuales podrían tener múltiples aplicaciones en la industria de alimentos.

Palabras clave: *Erythrina edulis*, proteína. (Fuente: DeCS - BIREME)

ABSTRACT

Chachafruto (*Erythrina edulis*) is a leguminous plant with a wide range of uses, from the human diet (seeds), animal diet (forage) to the recovery of nitrogen content of the soil. Its principal function is related to the food security due to its high content of proteins, plus vitamins and minerals. In this research, the extraction yield of

protein from chachafruto seeds flour was studied through the method of solvent extraction. The effect of the factors flour-solvent relation and dissolution time were analyzed. Protein analysis was conducted through the Kjeldahl method. In the chachafruto flour 8.37% of humidity and 18.4% of protein were obtained. According to their level of solubility in different solvents, the major fractions obtained in the flour protein were glutelins and albumins. The relationship flour-solvent and the dissolution time had significant effects ($P < 0.001$) in the extraction yield. The maximum 62% yield was obtained with a time of 60 min and a relationship of flour-solvent of 1:40. The results showed that it is possible to obtain high-value proteins from the chachafruto seeds, which could have multiple functions in the food industry.

Key words: *Erythrina edulis*, protein. (Source: MeSH, NLM)

INTRODUCCIÓN

Debido a la gran cantidad de grasas saturadas y colesterol que usualmente están presentes en las proteínas de origen animal, la mayoría de organizaciones de salud recomiendan incrementar el consumo de proteínas vegetales, las cuales pueden reducir los niveles de colesterol y el riesgo de enfermedad coronaria y diabetes.¹ Por otra parte, grandes segmentos de la población en los países en desarrollo sufren de malnutrición proteica. Las proyecciones, basadas en las tendencias actuales, indican una creciente brecha entre la población humana y el suministro de proteínas. Por lo anterior, intensos esfuerzos en investigación están siendo dirigidos hacia la identificación y evaluación de fuentes subexplotadas, como cultivos alternativos de proteínas para el mundo del mañana. En este sentido, se han desarrollado varios estudios para evaluar el potencial de leguminosas que hasta ahora no han sido ampliamente usadas como fuente de proteína en la dieta, ya que éstas pueden constituir un recurso genético para la mejora de los cultivos de leguminosas tradicionales.^{2,3}

Las leguminosas constituyen una amplia familia de plantas, muchas de las cuales son cultivadas con fines comerciales tales como fríjol (*Phaseolus vulgaris*), garbanzo (*Cicerarietinum*), lenteja (*Lens culinaris*), soya (*Glycinemax*) o arveja (*Pisumsativum*). El valor nutricional de estas plantas se debe al alto contenido de proteínas, minerales y vitaminas de sus semillas.⁴

El chachafruto (*Erythrina edulis* Triana Ex M. Micheli) es una de las más versátiles especies de las *Erythrina*, es una leguminosa multipropósito con un amplio espectro de usos, que van desde la alimentación humana (la semilla) y animal (el forraje) hasta la recuperación de suelos degradados (dada su capacidad de fijar nitrógeno), pasando por la formación de cercas vivas y las asociaciones con otras especies. Además de los anteriores usos, se le han identificado propiedades medicinales por ejemplo, como diurético.⁵ El chachafruto es un árbol multipropósito, cuya principal función está relacionada con la seguridad alimentaria, debido a que su semilla es rica en vitaminas, minerales y, especialmente, en proteínas. En un estudio realizado en la Universidad Nacional de Colombia se encontró que la semilla de chachafruto contiene un 23% de proteína y un aminograma comparable al del huevo y superior al del fríjol y la arveja.⁶ Según Acero,⁷ el valor biológico de la proteína del chachafruto es 70.9, superior al de la lenteja (44,6), el fríjol (58), la arveja (63,7) y el haba (54,8). La semilla se puede preparar cruda y tajada (como las papas), como grano cocido y entero y como grano cocido y molido para formar una masa. Adicionalmente, la harina que se obtiene del chachafruto se puede usar industrialmente en panadería, tratándola con antioxidantes.⁸

La disponibilidad en grandes cantidades de fuentes proteicas vegetales, su menor costo comparado con la proteína de origen animal y la tendencia a reducir la ingesta de proteínas

animales por razones de salud, 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 conformes a las demandas del mercado en alimentación especializada (infantil o tratamiento clínico), del mismo modo es factible su uso en la tecnología de alimentos con la finalidad de proporcionar o mejorar las cualidades funcionales, nutricionales, organolépticas y también para reducir los costos.^{9,10}

La extracción o fraccionamiento de proteínas de cereales y leguminosas con base en su solubilidad en diferentes solventes ha sido realizada por diferentes autores.^{11,12} Según los resultados obtenidos se considera que mientras menos solubles sean las proteínas, más desnaturalizados serán los aislados proteicos, es por eso que un paso de gran importancia e incidencia no solo para obtener un mayor porcentaje de proteína, sino para asegurar que esta no sufra alteraciones es elegir el método y solvente apropiados, ya que una mala decisión implica un daño intenso y modificación notoria de las propiedades funcionales de las proteínas.

En la actualidad si bien existen en Colombia estudios agronómicos sobre el chachafruto,¹³ los autores no han encontrado investigaciones acerca de la determinación de las condiciones más apropiadas para el proceso de extracción de sus proteínas. En el proceso de obtención de un extracto proteico se tienen en cuenta una serie de parámetros, como el tipo de solvente, el tiempo de exposición, el pH, la relación cantidad de muestra volumen de solvente, entre otros, que permiten separar la proteína en una forma más eficiente. Muchas proteínas tienen una actividad biológica en un intervalo limitado de pH y de temperatura. Si se exponen

las proteínas a pH y temperaturas extremas ocurre la desnaturalización, que es la causa de la disminución de la solubilidad.¹⁴

El objetivo de esta investigación fue obtener un extracto proteico de chachafruto estableciendo las condiciones óptimas de extracción en las cuales el rendimiento fuera mayor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se recolectaron las vainas que contienen los frutos de chachafruto en la vereda de Cajabamba del municipio de Consacá, departamento de Nariño (suroccidente de Colombia). Las vainas fueron recolectadas al amanecer y se transportaron a la Planta Piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño. La identificación taxonómica de la planta fue realizada en el Herbario de la Universidad de Nariño.

Obtención de la harina

Los frutos de chachafruto fueron sacados de sus vainas, lavados y seleccionados manualmente, posteriormente se les retiró la cáscara en una peladora industrial (Comek, Mod. 15 lb) se cortaron en láminas y se secaron en un secador de bandejas con aire forzado (CST-800, FIQ Ltda.) con un flujo de aire de $300 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ a temperatura de 50°C para evitar la desnaturalización de la proteína. Los frutos secos se trituraron en un molino de martillos (Javar Ltda., 0,5 HP) y la harina se tamizó con ayuda de un tamiz No 40 con una abertura de luz malla 0.0165 pulgadas.

Determinación del tipo de solvente

Se utilizaron los siguientes solventes: agua destilada, cloruro de sodio al 5%, hidróxido de sodio 0,01N y etanol al 70% para evaluar con cuál de ellos se lograba extraer la mayor cantidad de proteínas a partir de la harina de chachafruto. Se prepararon 4 muestras con 1 g de harina y 20 mL del respectivo solvente, éstas se centrifugaron a 5500 rpm por 20 min.¹⁵ Al sobrenadante obtenido se le ajustó el pH a 4,5 agregándole

H₃PO₄ al 10%,¹⁶ y se centrifugó nuevamente a 5500 rpm por 10 min; las proteínas precipitadas se lavaron con agua destilada y se secaron a una temperatura de 40°C por 16 h en una mufla. Se realizaron 5 repeticiones de cada ensayo y se calculó el porcentaje de proteína obtenida en cada fracción mediante la siguiente ecuación.^{17,18}

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(\text{proteína extraída en la fracción (g)})}{(\text{cantidad de harina (g)})} * 100 \quad (1)$$

Determinación de parámetros para la obtención del extracto proteico

Una vez escogido el solvente más adecuado, se realizaron los ensayos para determinar las mejores condiciones de obtención del extracto proteico. Los factores evaluados fueron la relación harina solvente con 2 niveles (1:20, 1:40g:mL) y el tiempo de disolución con 3 niveles (20, 40 y 60 min). Como variable de respuesta se evaluó el rendimiento de extracción. Se utilizó un diseño factorial aleatorizado que se llevó a cabo por triplicado. El proceso de extracción de la proteína se realizó con la metodología descrita anteriormente para la determinación del tipo del solvente a utilizar. El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.1.

Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas del extracto seco obtenido se realizó por el método de Kjeldahl con un factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6,25.¹⁹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de proteína de la harina de chachafruto

La harina obtenida por molienda, fue sometida a análisis de proteína y humedad en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño (Tabla 1). Como resultado se obtuvo que la harina de chachafruto contiene un 18,4% de proteína en base seca, valor que difiere del reportado por Barrera quien obtuvo un 23% de

proteína en la semilla.²⁰ Esta diferencia se puede atribuir a muchos factores tales como el método de extracción empleado, el contenido de humedad de la harina o las condiciones agronómicas del cultivo. Sin embargo, el resultado obtenido en este estudio coincide con lo reportado en el estudio de Pérez y otros,²¹ quienes encontraron que el contenido de proteína de las semillas de *Erythrina edulis* varió entre 18 - 21% y que cuando la fracción correspondiente a nitrógeno no proteico se extrajo con ácido tricloroacético (10%) este valor descendió a 14-15%.

Tabla 1. Análisis del contenido de proteína de la harina de chachafruto

Parámetro	Método de análisis	Valor obtenido (%p/p)
Humedad	Secado en estufa	8,37
Materia seca	Secado en estufa	91,6
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	18,4

Determinación del tipo de proteínas presentes en el chachafruto

Osborne²² desarrolló una metodología de clasificación de las proteínas de acuerdo con su solubilidad consiste en una serie de extracciones consecutivas con: agua, solución de sal diluida, solución de alcohol y solución de ácidos o álcalis diluidos. Usando esta secuencia de separación, las proteínas se pueden clasificar en albúminas, globulinas, prolaminas y gluteninas respectivamente. En la tabla 2 se presentan las diferentes fracciones de proteínas obtenidas de la harina de chachafruto de acuerdo con la clasificación de Osborne.

Tabla 2. Proporción de las fracciones proteicas de la harina chachafruto

Solvente	Tipo de proteína	Proteína extraída (%) [*]
NaOH	Glutelinas	13,29 ± 0,36
NaCl	Globulinas	8,83 ± 0,45
H ₂ O	Albúminas	11,52 ± 0,22
Etanol	Prolaminas	0,01 ± 0,003

^{*}Porcentaje con respecto al total de proteínas de la harina. Medias ± desviación estándar de 5 ensayos.

En la tabla 2 se puede observar que la fracción de glutelinas fue la más abundante en la harina de chachafruto con 13,89%, seguida de la de albúminas 11,52%, lo que corresponde en porcentaje relativo a 77% y 64% respecto del total de proteínas de la harina respectivamente. Se debe aclarar que la suma de las fracciones proteicas da un total de 34%, cuando debería ser de 18,4%, lo que se puede explicar por el hecho de que las fracciones no son completamente puras, es decir, que pueden contener porciones de otros tipos de proteínas además de impurezas.

A diferencia de otras leguminosas como *Phaseolus vulgaris*,²³ *Phaseolus lunatus*,²⁴ y *Lupinus mutabilis*,²⁵ donde las fracciones mayoritarias han sido las albúminas y globulinas, la harina de chachafruto presentó un mayor contenido de glutelinas y de albúminas. Un caso similar al del chachafruto es la harina de nuez de Barinas (*Caryodendron orinocense* K.) árbol nativo del piedemonte andino venezolano que presenta un contenido de proteínas en el rango de 15-18% y en el cual las fracciones proteicas mayoritarias fueron albúminas y prolaminas, siendo éstas últimas más comunes en la harina de cereales.²⁶ En el estudio de Pérez y cols.,²⁷ se encontró que el chachafruto posee un el contenido de aminoácidos igual o mayor que el presente en otras leguminosas, siendo deficitaria en aminoácidos azufrados como la metionina y el triptófano, razón por la cual su combinación con harinas de cereales se convierte en una buena alternativa para lograr un adecuado balance de aminoácidos esenciales.

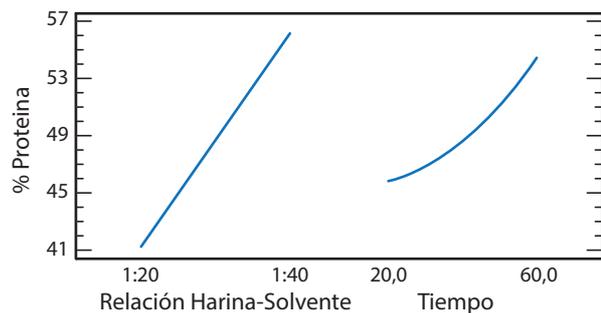
Efecto de las variables de extracción sobre el rendimiento del extracto proteico

El análisis de varianza mostró que existen efectos muy significativos ($P < 0,001$) de la relación harina: solvente y del tiempo sobre el rendimiento de extracción de proteína. Los rendimientos de extracción con una relación harina: solvente de 1:40 y tiempos de 20 y 60 min fueron de $54\% \pm 1,4$ y $62\% \pm 1,7$ de proteína respectivamente; mientras que, cuando

la relación harina: solvente fue de 1:20, el rendimiento de extracción fue de $37\% \pm 1,5$ y $47\% \pm 1,2$ de proteína para tiempos de 20 y 60 minutos respectivamente.

El gráfico de efectos principales (Gráfico 1) muestra que el porcentaje de proteína obtenida aumentó a medida que se incrementaron la cantidad de solvente o el tiempo de extracción. Cuando la relación harina: solvente pasó de 1:20 a 1:40 g:mL se observó un aumento de 15% en la cantidad de proteína extraída, mientras que cuando el tiempo se incrementó de 20 a 60 min dicho incremento fue de 9%. Al aumentar la concentración de disolvente se incrementa el coeficiente de transferencia de masa resultando una mayor extracción de proteína.²⁸

Gráfico 1. Diagrama de efectos principales para % de proteína



Resultados similares fueron los reportados por Urrutia,²⁹ quien determinó que el rendimiento de extracción de proteína es directamente proporcional a la cantidad de solvente utilizado. La cantidad de harina a solubilizar en el sistema harina y solvente, influye significativamente en la composición y cantidad porcentual de la proteína recuperada en la precipitación isoelectrica, sin embargo la cantidad de solvente debe ser adecuada para que no se saturen los componentes solubilizados. Con relación al tiempo de extracción, los resultados de esta investigación coinciden con los de otros estudios en los cuales se ha determinado que el tiempo óptimo para la solubilización de las proteínas es de 60 minutos.^{30,31} Ramírez,³² estudió el proceso

de extracción de aislado proteico de la cañihua (*Chenopodium pallidicaule*), utilizando una relación harina-solvente de 1:20 y un tiempo de solubilización de 60 minutos, obteniendo un 63,84% de proteína en el aislado, valor similar al encontrado en este estudio.

Se concluye que la extracción alcalina es un método apropiado para la obtención de extractos proteicos de harina de chachafruto y que la relación harina: solvente y el tiempo de extracción son factores que influyen de manera significativa en la cantidad de proteína recuperada, sin embargo se debe evaluar el efecto de otros factores no considerados en este estudio tales como el pH de extracción y precipitación y la temperatura. Adicionalmente, con el fin de determinar el potencial de aprovechamiento de la harina de chachafruto se requiere desarrollar investigaciones acerca de sus propiedades funcionales, cualificación de sus aminoácidos, componentes anti nutritivos, estudios de digestibilidad y valor biológico entre otros.

REFERENCIAS

- Martínez, C.; Urbano, G.; Porres, J.; Frias, J.; Vidal, C. Improvement in food intake and nutritive utilization of protein from *Lupinus albus* var. *Multolupa* protein isolates supplemented with ascorbic acid. *Food Chemistry*, 2007: 103, 944-951.
- Agbede, J. O.; Aletor, V. A. Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensi formi* and *Mucuna pruriens* seed flours. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005: 18, 89-103.
- Guzman-Maldonado, S. H.; Acosta-Gallegos, J.; Paredes-Lopez, O. Protein and mineral content of a novel collection of a wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000: 80, 1874-1881.
- Cubero, J. I.; Moreno, M. T. Leguminosas de grano. Madrid: Ed. Mundi Prens. 1983.
- Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Biocomercio Sostenible. Estudio de mercado a nivel nacional de productos derivados del chachafruto (*Erythrina edulis*). Bogotá, Colombia. 2003: 6.
- Barrera, Nancy. Origen e historia del chachafruto en Colombia. *Erythrina edulis* Triana ex Micheli. Palmira, 2002: 1.
- Acero, L. Guía para el cultivo y aprovechamiento del chachafruto o balú *Erythrina edulis* Triana Ex Micheli. Segunda edición. Bogotá: Convenio Andrés Bello. 2002: 15.
- Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Biocomercio Sostenible. Estudio de mercado a nivel nacional de productos derivados del chachafruto (*Erythrina edulis*). Bogota, Colombia. 2003: 7.
- Vioque, J.; Sánchez, R.; Pedroche, J.; Yust, M.; Millán, F. Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Grasas y Aceites*. 2001: 52(2), 127-131.
- Mondor, M.; Ippersiel, D.; Lamarche, F.; Boye, J. Production of soyprotein concentrates using a combination of electroacidification and ultra filtration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004: 52(23), 6991-6996.
- Padilla, F.; Guédez, T.; Alfaro, M.; Renault, M.; Rincón, A. Fraccionamiento y caracterización de las proteínas solubles de la harina de nuez de Barinas (*Caryodendron orinocense* K.). *Rev. Inst. Nac. Hig.* 2010: 41, 38-42.
- Gallegos, S.; Pacheco, J.; Betancur, D.; Chel, L. (2004). Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54(1), 81-88.
- Acero, L. Guía para el cultivo y aprovechamiento del chachafruto o balú *Erythrina edulis* Triana Ex Micheli. Segunda edición. Bogotá: Convenio Andrés Bello. 2003.
- Linden, G.; Loriet, D. Bioquímica agroindustrial. Revalorización Alimentaria de la producción Agrícola. Ed. Acribia. 1994: 65-70.

15. Callisaya, A.; Alvarado, J. Aislados Proteínicos de granos alto andinos Chenopodiaceas; quinua "Chenopodium quinoa" - Cañahua "Chenopodium pallidicaule" por Precipitación Isoeléctrica. Rev. Bol. Quim. 2009: 26, 12-20.
16. Shemer, M. Process for preparing a heat coagulable viscous protein United States Patent. 1980: 4, 188-399.
17. Padilla, F.; Guédez, T.; Alfaro, M.; Renault, M.; Rincón, A. Fraccionamiento y caracterización de las proteínas solubles de la harina de nuez de Barinas (*Caryodendron orinocense* K.). Rev. Inst. Nac. Hig. 2010: 41, 38-42.
18. Callisaya, A.; Alvarado, J. Aislados Proteínicos de granos alto andinos Chenopodiaceas; quinua (*Chenopodium quinoa*) y Cañahua (*Chenopodium pallidicaule*) por Precipitación Isoeléctrica. Rev. Bol. Quim. 2009: 26, 12-20.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. 17th Edition. Editor Horwitz, W. Maryland, USA. 2000.
20. Barrera, Nancy. Origen e historia del chachafruto en Colombia. *Erythrina edulis* Triana ex Micheli. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. 2002: 1.
21. Pérez, G.; Martínez, C.; Díaz, E. Evaluation of the protein quality of *Erythrina edulis* (balú). Arch Latinoam Nutr. 1979: 29(2), 193-207.
22. Osborne, T.B. The vegetable protein. New York. Longmans Green and Co. 1924.
23. Sathe, S.; Salunkhe, K. Functional properties of great northern bean seed (*Phaseolus vulgaris*) proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. J. Food Sci. 1981: 46, 71-75.
24. Gallegos, S.; Pacheco, J.; Betancur, D.; Chel L. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. Arch Latinoam Nutr. 2004: 54(1), 81-88.
25. Santos, C.; Ferreira, R.; Teixeira, A. Seed proteins of *Lupinus mutabilis*. J Agr Food Chem. 1997: 45, 3821-3825.
26. Padilla, F.; Guédez, T.; Alfaro, M.; Renault, M.; Rincón, A. Fraccionamiento y caracterización de las proteínas solubles de la harina de nuez de Barinas (*Caryodendron orinocense* K.). Rev. Inst. Nac. Hig. 2010: 41, 38-42.
27. Pérez, G.; Martínez, C.; Díaz, E. Evaluation of the protein quality of *Erythrina edulis* (balú). Arch Latinoam Nutr. 1979: 29(2), 193-207.
28. Seth, S.; Agrawal, Y.; Ghosh, P.; Jayas, D.; Singh, B. Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvent. Biosystems Engineering. 2007: 97, 209-217.
29. Urrutia, G. Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*). Tesis de Pregrado Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, Perú. 2010: 74-76.
30. Callisaya, A.; Alvarado, J. Aislados Proteínicos de granos alto andinos Chenopodiaceas; quinua (*Chenopodium quinoa*) y Cañahua (*Chenopodium pallidicaule*) por Precipitación Isoeléctrica. Rev. Bol. Quim. 2009: 26, 12-20.
31. Jayasena, V.; Chih, H.J.; Nasar-Abbas, S.M. Functional properties of Sweet Lupin protein isolated and tested at various pH levels. Food Science and Technology. 2010: 17(27), 25-32.
32. Ramírez Yupanqui, María. Obtención del aislado proteico de la Cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), mediante el proceso químico y evaluación de sus propiedades funcionales. Universidad Nacional del Altiplano, Perú. Tesis de pregrado de la Facultad de Ingeniería Química. 2004.