



*Evaluación del perfil de aminoácidos de una premezcla de polvo de arveja  
(Pisum Sativum) y avena (avena sativa)*

*Evaluation of the amino acid profile of a premix of pea powder (Pisum Sativum)  
and oats (avena sativa)*

*Avaliação do perfil de aminoácidos de uma pré-mistura de pó de ervilha (Pisum  
Sativum) e aveia (avena sativa)*

Carolina Alicia Paz-Yépez <sup>I</sup>

[cpaz@uagraria.edu.ec](mailto:cpaz@uagraria.edu.ec)

<https://orcid.org/0000-0001-9547-2817>

Josseline Tatiana Mendoza-Lozano <sup>II</sup>

[josseline.mendoza.lozano@uagraria.edu.ec](mailto:josseline.mendoza.lozano@uagraria.edu.ec)

<https://orcid.org/0000-0002-5810-0931>

**Correspondencia:** [cpaz@uagraria.edu.ec](mailto:cpaz@uagraria.edu.ec)

Ciencias Técnicas y Aplicadas

Artículo de Investigación

\* **Recibido:** 23 de septiembre de 2022 \* **Aceptado:** 27 de octubre de 2022 \* **Publicado:** 01 de noviembre de 2022

I. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.

II. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.

## Resumen

En Ecuador la desnutrición es un problema latente en niños y adolescentes con un índice del 15 % al 19,1 %, y en adultos con un índice del 1,9 %. Varios estudios se han enfocado en disminuir este índice, siendo entre los más importantes el desarrollo de mezclas de alimentos vegetales que contengan aminoácidos completos. En esta investigación se desarrollaron tres formulaciones utilizando un cereal (avena) y una leguminosa (arveja), con el fin de crear una mezcla que contenga los aminoácidos esenciales. Las formulaciones se realizaron considerando las siguientes proporciones (arveja:avena, respectivamente), F1: 40:60, F2: 50:50, y F3: 60:40. Se les evaluó el contenido de proteínas y posteriormente se realizó un análisis estadístico para seleccionar la formulación de mayor contenido proteico. El diseño experimental se realizó considerando un factor, tres tratamientos y 5 repeticiones, donde, el factor era la proporción arveja:avena. Como resultado del diseño experimental se obtuvo que la formulación 1 tuvo el mayor contenido proteico y con ello se determinó el perfil de aminoácidos presentando valores en g AA/ 100 g muestra; His 0,30, Ile 0,45, Leu 0,86, Lys 0,76, Met 0,19, Cys 0,49, Phe 0,60, Tyr 0,52, Thr 0,44, Trp 1,27, Val 0,57 y un análisis microbiológico para validar su consumo. Se concluye que la formulación 1 cumplía con el perfil de aminoácidos esenciales propuesto por la FNB/IOM y la FAO para niños de 1 a 3 años, adolescentes y adultos, exceptuando lactantes. Adicionalmente, los resultados microbiológicos indicaron que la premezcla es apta para el consumo humano.

**Palabras claves:** Aminoácidos; Arveja; Avena; Proteínas.

## Abstract

In Ecuador, malnutrition is a latent problem in children and adolescents with a rate of 15% to 19.1%, and in adults with a rate of 1.9%. Several studies have focused on reducing this index, one of the most important being the development of vegetable food mixtures that contain complete amino acids. In this research, three formulations were developed using a cereal (oats) and a legume (pea), in order to create a mixture containing essential amino acids. The formulations were made considering the following proportions (pea:oats, respectively), F1: 40:60, F2: 50:50, and F3: 60:40. Their protein content was evaluated and subsequently a statistical analysis was performed to select the formulation with the highest protein content. The experimental design was carried out considering one factor, three treatments and 5 repetitions,

where the factor was the pea:oat ratio. As a result of the experimental design, it was obtained that formulation 1 had the highest protein content and with it the amino acid profile was determined, presenting values in g AA/100 g sample; His 0.30, Ile 0.45, Leu 0.86, Lys 0.76, Met 0.19, Cys 0.49, Phe 0.60, Tyr 0.52, Thr 0.44, Trp 1.27, Val 0.57 and a microbiological analysis to validate its consumption. It is concluded that formulation 1 complied with the profile of essential amino acids proposed by the FNB/IOM and the FAO for children from 1 to 3 years of age, adolescents and adults, except infants. Additionally, the microbiological results indicated that the premix is suitable for human consumption.

**Keywords:** Amino acids; Vetch; Oatmeal; Proteins.

## Resumo

No Equador, a desnutrição é um problema latente em crianças e adolescentes com taxa de 15% a 19,1% e em adultos com taxa de 1,9%. Vários estudos têm focado na redução desse índice, sendo um dos mais importantes o desenvolvimento de misturas alimentares vegetais que contenham aminoácidos completos. Nesta pesquisa, foram desenvolvidas três formulações utilizando um cereal (aveia) e uma leguminosa (ervilha), a fim de criar uma mistura contendo aminoácidos essenciais. As formulações foram feitas considerando as seguintes proporções (ervilha:aveia, respectivamente), F1: 40:60, F2: 50:50 e F3: 60:40. O teor de proteína foi avaliado e posteriormente foi realizada uma análise estatística para selecionar a formulação com o maior teor de proteína. O delineamento experimental foi realizado considerando um fator, três tratamentos e 5 repetições, onde o fator foi a relação ervilha:aveia. Como resultado do delineamento experimental, obteve-se que a formulação 1 apresentou o maior teor de proteína e com ela foi determinado o perfil de aminoácidos, apresentando valores em g AA/100 g amostra; His 0,30, Ile 0,45, Leu 0,86, Lys 0,76, Met 0,19, Cys 0,49, Phe 0,60, Tyr 0,52, Thr 0,44, Trp 1,27, Val 0,57 e uma análise microbiológica para validar seu consumo. Conclui-se que a formulação 1 atendeu ao perfil de aminoácidos essenciais proposto pela FNB/IOM e pela FAO para crianças de 1 a 3 anos, adolescentes e adultos, exceto lactentes. Além disso, os resultados microbiológicos indicaram que a pré-mistura é adequada para consumo humano. Palavras-chave: Aminoácidos; Ervilhaca; Aveia; Proteínas.

## Introducción

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) define la malnutrición como una condición fisiológica anormal que resulta del consumo insuficiente, excesivo o desequilibrado de macronutrientes que proveen energía (hidratos de carbono, proteínas y grasas) y micronutrientes (vitaminas y minerales) que son esenciales para el crecimiento y el desarrollo cognitivo de una persona (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2014). La malnutrición se divide en tres tipos: desnutrición, deficiencia de micronutrientes, sobrepeso y obesidad ((Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020).

De acuerdo con la FAO (2011), la desnutrición es causada por el consumo insuficiente de alimentos que proveen macronutrientes (carbohidratos, proteínas, grasas) para satisfacer las necesidades de energía alimentaria. Así como también, puede originarse por la mala absorción de nutrientes como consecuencia de una enfermedad infecciosa (Agencia de la ONU para los refugiados, 2018). La importancia de la proteína en la dieta se debe a su capacidad de aportar aminoácidos esenciales para la síntesis de proteína corporal y su incremento durante el crecimiento. Cuando el aporte de aminoácidos es excesivo, el organismo lo utiliza como fuente energética (Hernández, 2005). Una limitación en el aporte de energía o proteína conduce a un retraso en el crecimiento conocido como desnutrición. En el adulto, la pérdida de proteína se asocia con numerosas alteraciones patológicas y a un aumento en la mortalidad (Martínez y Martínez, 2006).

El ser humano necesita de veinte aminoácidos de los cuales once de ellos el organismo los sintetiza, estos se denominan aminoácidos no esenciales. Por otra parte, los nueve aminoácidos restantes conocidos como esenciales no pueden ser sintetizados por el organismo y deben suministrarse mediante la dieta por medio de las proteínas (Mataix, 2013). La calidad de una proteína está principalmente determinada por dos factores: digestibilidad y la composición de aminoácidos esenciales de la proteína (Institute of Medicine of the National Academies, 2005). Una proteína que contenga todos los aminoácidos esenciales en concentraciones adecuadas, se denomina proteína de alto valor biológico o proteína completa (Cervera, Clapés y Rigolfas, 2004; Martínez y Martínez, 2004).

Generalmente, las proteínas de alto valor biológico se obtienen de alimentos de origen animal, dado que las proteínas de origen vegetal carecen de uno o más aminoácidos o contienen

aminoácidos que se encuentran en menor cantidad. Esta deficiencia del aminoácido en la proteína se conoce como aminoácido limitante (Cervera et al., 2004). Un alimento con aminoácido limitante no es deseado porque restringe la absorción completa del resto de aminoácidos en el organismo (Institute of Medicine of the National Academies, 2005; Cervera et al., 2004).

En Ecuador, la desnutrición es un problema que no se ha conseguido erradicar desde 1993 (Quiroz et al., 2020). De acuerdo con el informe emitido por la Organización de las Naciones Unidas (ONU) correspondiente al año 2018, en los últimos tres años el 7,8 % de los habitantes padecen de desnutrición, aconteciendo como principal causa el desbalance en la dieta diaria por el bajo consumo de carnes, frutas y legumbres (Saltos, 2019). Conforme a la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) realizada en el año 2013, el 25,3 % de la población preescolar (0 – 5 años) padece de desnutrición crónica (baja estatura para la edad), porcentaje que se ha mantenido hasta la actualidad y que se prevé un incremento del 27 % como consecuencia del COVID-19 (Zambrano, 2020).

La misma situación acontece en la población escolar (5 – 11 años) y adolescente (12 – 19 años) atribuyéndose un índice de desnutrición del 15 % y 19,1 % respectivamente. Por otra parte, el 1,9 % de los adultos (20 - 60 años) padecen de desnutrición aguda (bajo peso para la edad) (Freire et al., 2013). Varios estudios acerca de mezclas de alimentos vegetales aminoacídicamente completos se han realizado con el fin de disminuir problemas de desnutrición, promover el consumo de alimentos vegetales u ofrecer alternativas diferentes a las comunes como los alimentos de origen animal.

Santillán (2018) en su trabajo de investigación, menciona que una correcta formulación de mezclas a partir de cereales y leguminosas puede llegar a aportar la misma cantidad de aminoácidos esenciales que un kilogramo de carne de res. El estudio se orientó en encontrar la mejor combinación de cereal: leguminosa (en base a la calidad aminoacídica) de 144 mezclas alimenticias utilizando 4 tipos de cereales y 4 tipos de leguminosas, con el objetivo de disminuir los índices de desnutrición infantil. Los cereales considerados para realizar las mezclas fueron: arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), avena (*Avena sativa*) y maíz (*Zea mays*); y las leguminosas: chocho (*Lupinus mutabilis*), arveja (*Pisum sativum*), lenteja (*Lens culinaris*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Coila (2020) explica que en la actualidad las personas prefieren una alimentación vegetariana, sin embargo, la calidad proteica no es óptima para reemplazar los alimentos de origen animal. Por

esa razón, mediante el método PDCAAS (Puntuación de aminoácidos corregida por la digestibilidad) y la optimización con Design Expert, determinó el aporte aminoacídico de varias combinaciones entre granos andinos, cereales y leguminosas. Los factores que fueron considerados para la selección de los alimentos en el estudio fueron la composición química proximal, el contenido de aminoácidos esenciales y el factor de digestibilidad. Los alimentos seleccionados fueron: tarwi, arroz, cañihua, avena, quinua, kiwicha (amaranto), maíz, soya, lenteja, garbanzo y haba.

En este contexto de la investigación, se busca formular una premezcla tipo suplemento con el fin de proporcionar proteínas de alto valor biológico mediante la combinación de un cereal (avena) y una leguminosa (arveja) para ser ofertado como una alternativa diferente a los productos con contenido proteico ya existentes.

Las proteínas tienen la capacidad de complementarse entre sí, al mezclar proteínas de alto y bajo valor biológico, o proteínas de bajo valor biológico con distintos aminoácidos limitantes. Mediante la combinación de proteínas, se puede suplir el déficit de aminoácidos y potenciar su síntesis en el organismo (Cervera et al., 2004). De acuerdo con el Comité de Nutrición y Alimentos del Instituto de Medicina de Estados Unidos (FNB/IOM), el perfil de aminoácidos que debe cumplir una proteína de calidad considerando el requerimiento de aminoácidos y proteínas en niños  $\geq 1$  año y demás grupos de edades, es la siguiente: 1,8 % histidina; 2,5 % isoleucina; 5,5 % leucina; 5,1 % lisina; 2,5 % metionina; 4,7 % fenilalanina; 2,7 % treonina; 0,7 % triptófano y 3,2 % valina (Institute of Medicine of the National Academies, 2005).

La presente investigación se enfoca en la formulación de una premezcla mediante la combinación de dos alimentos con aminoácidos limitantes diferentes. Los cereales como la avena (*Avena sativa*) son deficientes en lisina con un valor de 41 – 45 mg/ g proteína (4,1 - 4,5 %), pero completos en metionina con un valor de 15 – 20 mg/ g proteína (1,5 - 2,0 %) (Pettersson et al., 1996). En contraste, las leguminosas como las arvejas (*Pisum sativum*) son deficientes en metionina con un valor de 10,3 mg/ g proteína (1,03 %), pero completos en lisina con un valor de 68,4 mg/ g proteína (6,84 %) (Leterme et al., 1990), de manera que pueden complementarse proteicamente (Cervera et al., 2004).

La premezcla puede consumirse de varias maneras debido a su presentación como polvo. La forma de consumo dependerá de la necesidad y del gusto de cada persona, sin embargo, por su composición al contener un cereal y un espesante (goma xantana) puede emplearse como un

agregado en preparaciones como sopas, panes, coladas, batidos y galletas. En definitiva, esta premezcla se aprovecha de mejor manera al utilizarse en preparaciones que requieran de una consistencia espesa.

## **Materiales y métodos**

El diseño de investigación se realizó mediante la propuesta de formulaciones de tres mezclas alimenticias, la cual, mediante análisis estadístico se seleccionó la mejor combinación en base a la cantidad de proteínas. La formulación seleccionada fue utilizada para realizar la caracterización de aminoácidos y los análisis microbiológicos.

## **Descripción de los componentes de las formulaciones**

Polvo de arvejas (*Pisum sativum*): Aporta aminoácidos esenciales. Contiene altos niveles de lisina y es deficiente en triptófano y en aminoácidos azufrados como metionina y cisteína.

Harina de avena (*Avena sativa*): Aporta aminoácidos esenciales. Contiene altos niveles de triptófano y aminoácidos azufrados como metionina y cisteína.

Goma xantana: Es un polisacárido (E – 415) procedente de la fermentación del maíz que actúa como un espesante. Confiere alta viscosidad al agregarse en preparaciones líquidas como sopas, coladas, jugos, etc. En preparaciones como salsas, lácteos como helados, productos de panadería y pastelería, se lo puede usar como estabilizante o emulsionante

Preservantes (NS-1017S): Es un sistema de preservantes efectivo contra bacterias, mohos y levaduras, en un rango de pH de 5,0 a 6,5. Los componentes químicos que componen el sistema son:

Propionato de sodio: Es una sal soluble y tiene una efectividad ideal a un pH de 5.0 en la mayoría de las aplicaciones contra mohos y algunas bacterias que producen babosidad. Es inefectivo contra levaduras (CFR 184-1784).

Sorbato de potasio: Es efectivo hasta un pH de 6.5 contra levaduras y mohos. Es inefectivo contra bacterias (CFR 182.3640).

Acetato de calcio: Es efectivo hasta un pH de 4,5 contra levaduras y bacterias. Es inefectivo contra mohos (CFR 184.1185).

Cada uno de estos componentes tiene un rango óptimo de pH así como el tipo de microorganismos contra los cuales son efectivos. La combinación de ellos hace un sistema más efectivo. Ello favorece una mayor estabilidad del alimento e incrementar su vida útil del producto. El desarrollo de la premezcla tipo suplemento se realizó mediante la formulación de tres tratamientos presentado en la Tabla 1.

**Figura 1:** Tratamientos del diseño experimental

<b>Componentes</b>	<b>Tratamiento 1</b>	<b>Tratamiento 2</b>	<b>Tratamiento 3</b>
	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
Polvo de arveja	39,71	49,6375	59,565
Harina de avena	59,565	49,6375	39,71
Goma Xantana	0,6	0,6	0,6
* Preservantes (NS-1017S)	0,125	0,125	0,125
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Porcentajes de los componentes de cada tratamiento.

\*Propionato de sodio, Sorbato de potasio, Acetato de calcio

El diseño experimental estuvo basado en un diseño completamente aleatorizado (DCA) el cuál usa como procedimiento estadístico el análisis de varianza (ANOVA). El diseño estuvo compuesto de un factor (formulación de la premezcla), tres tratamientos (niveles) y cinco repeticiones por tratamiento. En total se analizaron 15 datos y se realizó el test de normalidad Shapiro - Wilk para determinar si los datos seguían una distribución normal y con ello aplicar el diseño completamente aleatorizado (DCA). Si los datos no seguían una distribución normal, estos debían ser analizados mediante el método no paramétrico Kruskal – Wallis.

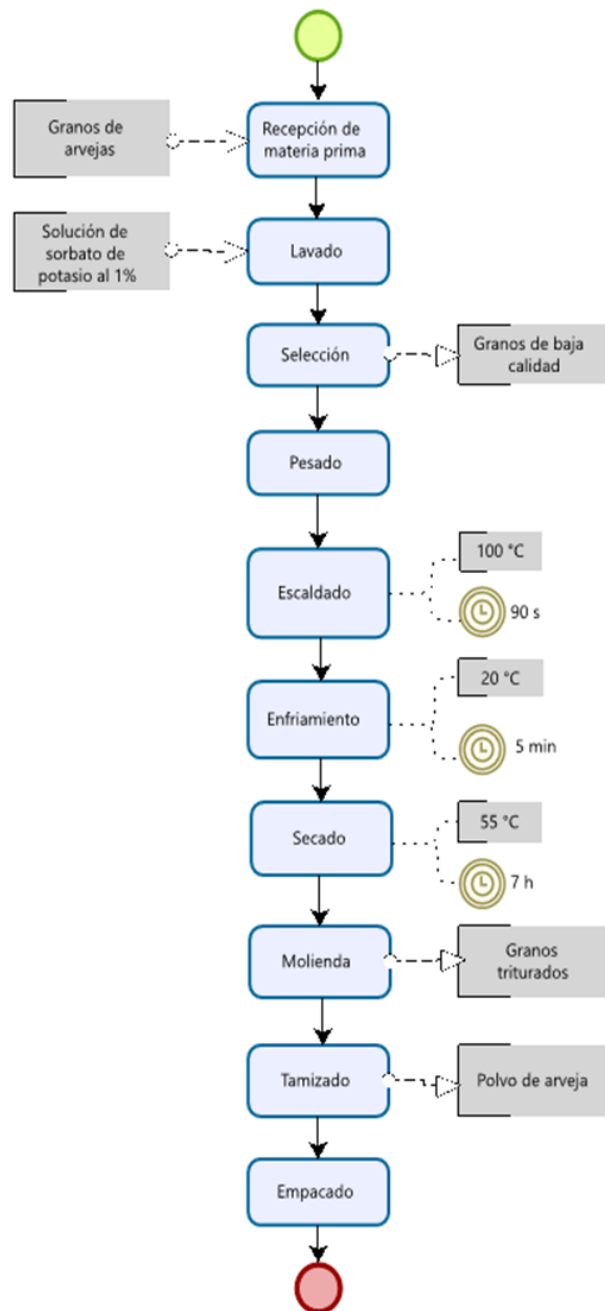
El análisis estadístico determinó si existían diferencias significativas entre las tres formulaciones con respecto al contenido de proteínas. En caso de que hubieran existido diferencias significativas entre los tratamientos, se habría realizado un análisis de medias de Tukey al 5 % de probabilidad.

Para la obtención del polvo de arveja se emplearon granos de arveja (*Pisum sativum*), sorbato de potasio, bolsas de polipropileno de alta densidad. Para la Obtención de la premezcla se empleó polvo de arveja, harina de avena, goma xantana y preservantes: propionato de sodio, sorbato de



potasio, acetato de calcio, bolsas de polipropileno de alta densidad. Dentro de los equipos se emplearon tamices, molinos, marmitas, Deshidratador (Model No: ST – 04 (T)), balanza.

La obtención del polvo de arveja (*Pisum sativum*) se realizó de acuerdo con el diagrama de flujo descrito en la Figura 1.



**Figura 2:** Etapas del proceso de obtención del polvo de arveja (*Pisum sativum*)

## **Descripción de las etapas del proceso de obtención del polvo de arveja**

- Recepción de materia prima: Se recibió la leguminosa en recipientes plásticos para su posterior selección, pesados y limpieza.
- Lavado: La limpieza de los granos se realizó por inmersión en una solución de sorbato de potasio al 1 %. La finalidad del lavado es limpiar el grano de cualquier impureza no visible que pudiera afectar la calidad final del polvo de arveja.
- Selección: En esta etapa se realizó la selección de los granos de arveja en base a las características físicas. Los granos que presentaron contaminación por insectos, daños físicos o material ajeno que pudieran comprometer la calidad del polvo de arveja, fueron desechados en un recipiente alterno.
- Pesado: En una balanza se pesó la cantidad requerida para el posterior procesamiento de los granos de arveja.
- Escaldado: En una marmita se sometieron los granos en agua a una temperatura de 100 °C durante 90 s. Esta etapa del proceso es fundamental porque inactiva la enzima lipoxigenasa, la cual es causante de aromas y sabores indeseables característicos de las leguminosas. Adicionalmente, también se logra disminuir la carga microbiológica de los granos.
- Enfriamiento: Luego del escaldado, se sumergieron los granos inmediatamente en agua a temperatura de 20 °C durante 5 min., con la finalidad de detener el calentamiento del grano y evitar alteraciones no deseadas.
- Secado: En esta etapa se disminuyó la  $a_w$  de los granos en un deshidratador de acero inoxidable grado alimenticio (Model No: ST- 04(T)) a 55°C durante 7 h. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. El secado de los granos es importante porque evitará la formación de grumos en la siguiente etapa.
- Molienda: Los granos secos se colocaron en el molino para ser triturados y posteriormente separados según su granulometría en la siguiente etapa.
- Tamizado: Los granos triturados se tamizaron en mallas de diferentes números para la obtención del polvo de arveja con un tamaño de partícula de hasta 800  $\mu\text{m}$ .
- Empacado: En fundas de polipropileno de alta densidad se empacó y se almacenó el polvo de arveja hasta su posterior uso.

## Determinación del contenido de proteínas

Los reactivos empleados para la determinación de proteínas fueron: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-97 %, sulfato de cobre sulfato de potasio, NaOH 30 %, NaOH 0,1N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N, agua destilada e indicador rojo de metilo. Dentro de los materiales se puede mencionar: \_Tubo Kjeldahl, perlas de vidrio, papel filtro, probeta, matraces erlenmeyer, bureta Matraz Aforado 1000ml, vasos precipitados, recipientes plásticos de 1 L, espátulas, aparato Kjeldahl, destilador de proteínas, Sorbona.

El análisis de proteínas se realizó mediante el método Kjeldahl determinando el contenido de nitrógeno orgánico total. El método se divide en tres etapas: digestión, destilación y valoración.

**Digestión:** Se produce la descomposición del nitrógeno contenida en la muestra usando una solución de ácido sulfúrico concentrado. El resultado es sulfato de amonio.

**Destilación:** Se realiza la destilación por arrastre de vapor de agua y se libera amoníaco, el cual se retiene con ácido sulfúrico.

**Titulación:** Mediante titulación se determina la cantidad de amonio presente en la muestra destilada (ESPOL, 2016).

Procedimiento:

1. Pesar aprox. 1 g de muestra en papel filtro. Realizar la muestra por duplicado.
2. Pesar 0,8 g sulfato de cobre y 7 g de sulfato de potasio y agregar en los tubos Kjeldahl.
3. Agregar 6 - 10 perlas de vidrio en cada tubo.
4. Agregar las muestras envueltas en papel filtro en los tubos Kjeldahl.
5. Llevar los tubos a la campana de extracción y medir 25 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Realizar un blanco (agregar todos los reactivos menos la muestra).
6. Se colocó los tubos en la parrilla de digestión.
7. Encender el regulador y el equipo y programar la temperatura de trabajo (Programa 4)  
Paso 1: 150 °C / 15 min.  
Paso 2: 150 °C / 15 min.  
Paso 3: 300 °C / 30 min.  
Paso 4: 400 °C / 90 min.
8. Una vez terminado el programa, se alza el soporte de los tubos para evitar que siga el calentamiento y esperamos que se enfríen.
9. En un matraz Erlenmeyer se colocan 50 ml de ácido sulfúrico estandarizado al 0,1 N y se agrega 4 gotas de rojo de metilo.

10. Los tubos son colocados uno a uno en el equipo de destilación junto a cada matraz para recolectar el destilado.
11. Se titula con NaOH 0,1 N; la titulación termina cuando la solución cambia a amarillo.
12. Anotar el volumen consumido por la bureta.

Cálculos:

El contenido de proteínas en la muestra, en base seca, se calculó mediante la ecuación 1.

Ecuación 1:

$$P = (1.40)(F) \frac{(V_1N_1 - V_2N_2) - (V_3N_1 - V_4N_2)}{m(100 - H)}$$

Dónde:

P= contenido de proteínas en porcentaje de masa.

$V_1$ = volumen de la solución 0,1 N  $H_2SO_4$ , empleado para recoger el destilado de la muestra, en  $cm^3$ .

$N_1$ = normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

$V_2$ = volumen de la solución 0,1 N de NaOH, empleado en la titulación, en  $cm^3$ .

$N_2$ = normalidad de la solución de NaOH.

$V_3$ = volumen de la solución 0,1 N  $H_2SO_4$ , empleado para recoger el destilado del ensayo en blanco, en  $cm^3$ .

$V_4$ = volumen de la solución 0,1 N NaOH, empleado en la titulación del ensayo en blanco, en  $cm^3$ .

m= masa de la muestra en g.

H= porcentaje de humedad en la muestra

F= factor para convertir el nitrógeno a proteínas. (F=6.25) (ESPOL, 2016)

### Caracterización de aminoácidos por método HPLC

Para la caracterización de los aminoácidos se empleó Solución de o-ftalaldehído (OPA), Metanol, Tampón borato, Ácido mercaptopropiónico, Kit de L-aminoácidos de SIGMA Chemicals Corp. Equipo de HPLC Shimadzu.

La determinación del perfil de aminoácidos se realizó mediante la combinación de la solución de o-ftalaldehído (OPA) con el ácido mercaptopropiónico produciendo un derivado isoindólico

fluorescente que absorbe a 338 nm. La obtención del derivado isoindólico fluorescente se utilizó para la detección de los aminoácidos (Castillo et al., 2011).

Procedimiento:

1. Preparar solución de o-ftalaldehído (OPA) mezclando 50 mg de OPA, 4 ml de metanol, 500 µl de tampón borato y 50 µl de ácido mercaptopropiónico.
2. Método de derivatización de la muestra: En base al procedimiento reportado por Godel (1987), utilizar la derivatización con OPA para los aminoácidos primarios con una modificación al reemplazar el mercaptoetanol por el ácido-3-mercaptopropiónico.
3. Realizar una mezcla automática en el inyector durante 3 min de 30 µl de muestra con 180 µl de tampón borato a pH 10,4 y 30 µl de OPA.
4. Condiciones cromatográficas: Uso del equipo de HPLC Shimadzu con bombas LC-10 AD VP117 y autoinyector SIL-10 AD VP con un sistema controlador SCL10 AD VP y un detector UV SPD-10A. Uso de columna: Lichrospher 100 RP18, 5 µm (Merck) con detección por UV a 338 nm a temperatura entre 30 y 35 °C a un flujo de 1,2 ml min, con un volumen de inyección de 10 µl, utilizando un programa de gradiente binario. La fase móvil es un gradiente en el tiempo de los solventes A (20 mM de buffer acetato sódico con 0,018 % (v/v) de trietilamina y 0,03 % de tetrahidrofurano) y B (20 % de 100 mM de buffer acetato sódico, 40 % de acetonitrilo y 40 % de metanol).
5. Calibración externa: Para la cuantificación se realizó una calibración externa con mezcla de L-aminoácidos: ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), asparagina (Asn), serina (Ser), glutamina (Gln), histidina (His), glicina (Gly), threonina (Thr), alanina (Ala), arginina (Arg), tirosina (Tyr), valina (Val), metionina (Met), triptófano (Tryp), fenilalanina (Phe), leucina (Leu) y lisina (Lys), a una concentración de 0,25 µmol/ml en 0,1 N de HCl (Castillo et al., 2011).

### **Análisis microbiológicos**

Los insumos empleados fueron: filtro de membrana microporosa, placa estéril con medio Sabouraud dextrosa agar, Tampón fosfato de pH 7,2, placa estéril de agar biliar rojo violeta con glucosa y lactosa, Placa estéril con medio de digestión de soja – caseína – agar, Caldo de enriquecimiento Mossel -Enterobacteriaceae. Pinzas estériles, bomba vacía, pipetas, tubos de ensayo, equipo de filtración.

### **Recuento microbiano aerobio total - Método de filtración por membrana**

Este método se fundamenta en determinar el número y tipo de microorganismo retenido en la superficie de un filtro de membrana microporosa con poros de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro para su identificación y recuento de colonias de los microorganismos retenidos. A través de la membrana se filtró un volumen conocido de muestra, incubada en un medio de cultivo durante un tiempo y a una temperatura adecuada (De Castro y De Curtis, 2002).

Procedimiento:

1. Disolver 10 g de muestra en tampón fosfato de pH 7,2, medio líquido de digestión de soja - caseína para hacer 100 ml.
2. Pipetear 1 ml de la dilución final en 5 a 10 ml de tampón fosfato de pH 7,2, medio líquido de digestión de soja – caseína.
3. Lavar cada membrana con uno de los diluyentes anteriores y transferir cada membrana a una caja petri que contenga medio digerido de soja – caseína - agar previamente solidificado a temperatura ambiente.
4. Incubar las placas a una temperatura de 30 a 35 °C durante 48 a 72 h.
5. Luego de la incubación, examinar las placas en busca de crecimiento.
6. Contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en término de número de microorganismos por g de muestra.

En caso de no existir colonias microbianas en las placas que representan la dilución inicial 1:10 de la muestra, se expresará los resultados como menos de 10 microorganismos por g de muestra (Microbiology and Sterility Assurance, 2021).

### **Recuento total de mohos y levaduras - Método de filtración por membrana**

Procedimiento:

Proceder con el método de filtración por membrana detallado en el procedimiento del recuento microbiano aeróbico total con excepción del medio. Se usó *Sabouraud dextrosa agar* en lugar de medio de digestión de soja – caseína – agar e incubó las placas durante 5 a 7 días a 20 °C – 25 °C.

## Recuento de enterobacterias - Método de múltiples tubos

### Fundamento

Mediante varias diluciones sucesivas de la muestra, se buscó obtener inóculos de al menos una célula que presente crecimiento en el medio de cultivo. Este método consta de dos fases: fase presuntiva y fase confirmativa.

En la fase presuntiva se da la fermentación de la lactosa y en la fase confirmativa la fermentación de lactosa y producción de gas. La cantidad de tubos positivos y negativos permite obtener una estimación de la densidad de bacterias obtenidas a través de la aplicación de cálculos de probabilidad.

Procedimiento:

1. Disolver 10 g de muestra en un volumen suficiente de tampón fosfato de pH 7,2 o medio líquido de digestión de soja - caseína y diluir con medio líquido de digestión de soja - caseína hasta 100 ml.
2. Preincubar durante 2 a 5 horas a 20 °C – 25 °C en diluyente de caldo digerido de soja y caseína.
3. Inocular cantidades adecuadas en caldo de enriquecimiento *Mossel -Enterobacteriaceae* para contener 0,1, 0,01, 0,001 g de producto.
4. Incubar a 30 °C – 35 °C durante 24 a 48 horas.
5. Subcultivar en una placa de agar biliar rojo violeta con glucosa y lactosa e incubar a 30 °C – 35 °C durante 18 a 24 horas.

El crecimiento de colonias bien desarrolladas, generalmente rojas o rojizas de bacterias Gramnegativas revelará la presencia de enterobacterias.

### Análisis estadístico

En base al supuesto de normalidad mediante la prueba Shapiro - Wilk, los datos siguieron una distribución normal; por lo que, el análisis estadístico se lo realizó utilizando el análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 2), caso contrario, se hubiera analizado mediante la Prueba no paramétrica Kruskal - Wallis. El análisis determinó si existían o no diferencias significativas entre las formulaciones, con ello se determinaba la formulación que aportaba mayor contenido

proteico. Al no existir diferencias significativas, se utilizó como factor de selección la media más alta de las formulaciones para determinar aquella con mayor contenido proteico y posteriormente evaluar el perfil de aminoácidos y realizar los análisis microbiológicos.

**Figura 3:** Tabla de análisis de varianza para modelo de un solo factor y efectos fijos

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	$F_0$
Entre tratamientos	$SS_{Tratamientos} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^a y_i^2 - \frac{y_{..}^2}{N}$	a-1	$MS_{Tratamientos} = \frac{SS_{Tratamientos}}{a-1}$	$F_0 = \frac{MS_{Tratamientos}}{MS_E}$
Error (dentro de los tratamientos)	$SS_E = SS_T - SS_{Tratamientos}$	N-a	$MS_E = \frac{SS_E}{N-a}$	
Total	$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \frac{y_{..}^2}{N}$	N-1		

Análisis de varianza para modelo de un solo factor y efectos fijos

Montgomery, 2004

a: número de tratamientos

N: número total de observaciones

n: número de observaciones por tratamiento

### Prueba Kruskal – Wallis

El uso de la prueba Kruskal – Wallis requiere calcular el estadístico de prueba descrito por la ecuación 2 y la varianza de rangos descrita por la ecuación 4 para concluir sobre la distribución de los datos en caso de no existir normalidad.

Ecuación 2: Estadístico de prueba

$$H = \frac{1}{S^2} \left[ \sum_{i=1}^a \frac{R_i^2}{n_i} - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$



$R_i$ : Suma de los rangos del tratamiento  $i$  – ésimo

$a$ : número de tratamientos

$N$ : número total de observaciones

$n_i$ : número de observaciones del  $i$  – ésimo tratamiento

Ecuación 4: Varianza de los rangos

$$S^2 = \frac{1}{N-1} \left[ \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij}^2 - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

$R_{ij}$ : Rango de la observación  $ij$

$H > \chi_{\alpha, a-1}^2$ , la hipótesis nula se rechaza (Montgomery, 2004)

## Resultados y discusión

Desarrollo de las formulaciones de la premezcla a base de avena y polvo de arvejas

Para el desarrollo de las formulaciones de la premezcla fueron realizadas con harina de avena, polvo de arveja obtenido a partir de granos de arvejas deshidratados, el espesante goma xantana para la mejora tecnológica del producto y el sistema de preservantes NS-1017S.

Para la experimentación de las formulaciones con los ingredientes propuestos se siguieron las etapas a continuación: el proceso de la obtención de la premezcla inició con el lavado de los granos mediante inmersión en una solución de sorbato de potasio al 1 %. Los granos fueron seleccionados, aquellos que presentaban contaminación por insectos, daños físicos o contenían algún material ajeno que pudieran comprometer la calidad del polvo, se desechaban en un recipiente alterno y pesado.

Posteriormente, los granos se escaldaron en un recipiente metálico a una temperatura de 100 °C durante 90 s para lograr la inactivación de la enzima lipoxigenasa y reducir carga microbiológica. Luego del escaldado, los granos fueron sumergidos inmediatamente en agua a temperatura de 20 °C durante 5 min, con la finalidad de detener el calentamiento del grano y evitar alteraciones no deseadas.

Los granos secos y fríos fueron deshidratados en un deshidratador de acero inoxidable grado alimenticio (Model No: ST- 04(T)) a 55°C durante 7 h y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, los granos secos fueron molidos, tamizados, mezclados con la avena y los aditivos, y

empacados en fundas de polipropileno de alta densidad para evitar la contaminación con el ambiente.

Una vez obtenido el polvo de arvejas, se procedió a realizar la mezcla con el resto de los ingredientes para la obtención de las formulaciones.

El porcentaje de la harina de avena y el polvo de arvejas en la fórmula fue definido mediante el estudio de artículos científicos sobre la mejor combinación entre cereales y leguminosas; y los aditivos fueron añadidos considerando la dosis de la ficha técnica respectiva o mediante la revisión de documentos oficiales como el Codex Alimentarius o el reglamento (UE) de la Comisión Europea sobre el uso de aditivos alimentarios, esta información fue empleada como bases técnicas para el desarrollo del producto.

La selección de ingredientes y aditivos es de gran importancia para la obtención del suplemento, ya que esto determina la calidad del producto final. Para la elaboración del suplemento nutricional se hizo uso de los siguientes ingredientes: - Polvo de arvejas (*Pisum sativum*), aporta aminoácidos esenciales. Contiene altos niveles de lisina y es deficiente en triptófano y en aminoácidos azufrados como metionina y cisteína. - Harina de avena (*Avena sativa*), aporta aminoácidos esenciales. Contiene altos niveles de triptófano y aminoácidos azufrados como metionina y cisteína.

En cuanto a los aditivos alimentarios empleados fueron: - Goma xantana, es un polisacárido (E – 415) procedente de la fermentación del maíz que actúa como un espesante. Confiere alta viscosidad al agregarse en preparaciones líquidas como sopas, coladas, jugos, etc. En preparaciones como salsas, lácteos como helados, productos de panadería y pastelería, se lo puede usar como estabilizante o emulsionante. -Preservantes (NS-1017S), es un sistema de preservantes efectivo contra bacterias, mohos y levaduras, en un rango de pH de 5,0 a 6,5. Los componentes químicos que componen el sistema son: propionato de sodio, sorbato de potasio, acetato de calcio. Cada uno de estos componentes tiene un rango óptimo de pH así como el tipo de microorganismos contra los cuales son efectivos. Ello propicia una mayor estabilidad del alimento e incrementar su vida útil del producto.

Se desarrollaron tres formulaciones. La primera formulación contenía 60% avena 40% arveja, la segunda formulación 50% avena 50% arveja y la tercera formulación 40% avena 60% arveja. El porcentaje de los aditivos se mantuvo constante ya que estos no tenían influencia en el contenido

final de proteínas de la premezcla y por ende en la concentración final de los aminoácidos, obteniendo así los prototipos de estudio.

Para la selección de la mejor formulación, que se ajuste al concepto del producto planteado en la presente investigación, se analizó el contenido de proteínas con ayuda de un diseño completamente aleatorizado (DCA), el cual tenía como objetivo analizar el efecto de las combinaciones avena: arveja en el contenido total de proteínas. La aplicación del diseño experimental se realizó considerando un factor, tres tratamientos y 5 repeticiones. El factor era la proporción avena: arveja, los tratamientos eran las formulaciones y las repeticiones el número de análisis de proteínas que se iba a realizar por tratamiento.

Finalmente, se analizó el perfil de aminoácidos a la formulación seleccionada del diseño experimental para su posterior comparación con el perfil de aminoácidos propuesto por la FNB/IOM y la FAO a diferentes grupos etarios. De esta manera, se determinó el segmento de población que podía consumir la premezcla y se valida el planteamiento de la formulación que se ajustaba al eje central de la investigación.

### **Determinación del contenido de proteínas de las formulaciones mediante método Kjeldhal**

Las tres formulaciones planteadas fueron analizadas utilizando muestras de aproximadamente 200 g en condiciones climáticas de ensayo de  $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  de temperatura y  $55\% \pm 15\%$  de humedad relativa. La Tabla 3 indica los porcentajes de proteína de las tres formulaciones con cinco repeticiones por formulación.

**Figura 4:** Cantidad de proteínas de las tres formulaciones

<b>Tratamientos</b>			
	<b>Formulación 1</b>	<b>Formulación 2</b>	<b>Formulación 3</b>
	13,96	13,40	13,37
	13,48	13,67	14,00
<b>% Proteína</b>	13,29	13,16	13,05
	13,44	13,35	13,12
	13,00	13,18	13,17
<b>Promedio</b>	13,43	13,35	13,34

## Porcentaje del contenido de proteínas

El porcentaje de proteína de las tres formulaciones se encuentra en un rango de 13 – 14 %. En el diseño experimental, los valores de cada formulación ayudarán a determinar si variar el porcentaje de avena y arveja influye significativamente en el contenido de proteínas entre las formulaciones.

## Resultados del diseño experimental

### Prueba de normalidad: Shapiro – Wilk

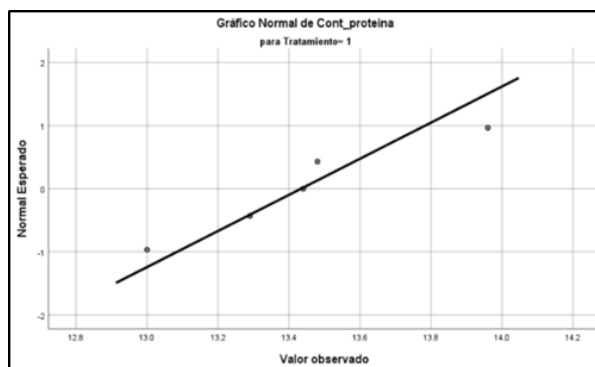
La Tabla 4 muestra el resultado de la prueba de normalidad para las tres formulaciones. El valor de significancia es mayor a 0,05, por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula. Es decir, las tres formulaciones siguen una distribución normal. Las Figuras 2, 3 y 4 muestran el test de normalidad de las formulaciones.

**Figura 5:** Test de normalidad de las tres formulaciones

		Tratamiento	Número de repeticiones	de	Valor de significancia
<b>Contenido de proteína</b>	1		5		0,798
	2		5		0,437
	3		5		0,082

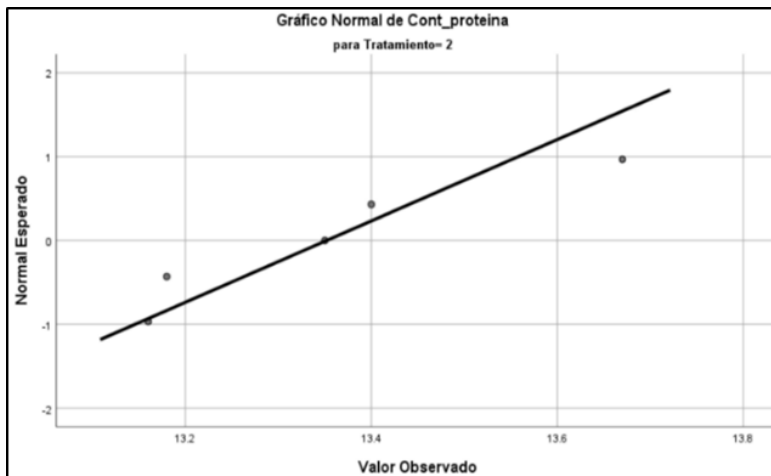
Valor  $\alpha = 0,05$

Formulación 1



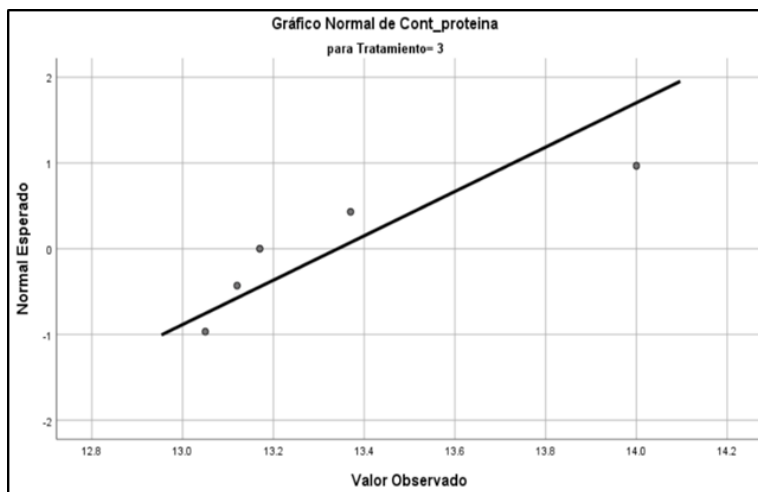
**Figura 6:** Test de normalidad para la formulación 1

Formulación 2



**Figura 7:** Test de normalidad para la formulación 2

Formulación 3



**Figura 8:** Test de normalidad para la formulación 3

### Diseño completamente aleatorizado (DCA)

En la Tabla 5 se puede observar que el valor de significancia es mayor a 0,05, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula. No hay diferencias significativas entre las tres formulaciones, es decir, se puede escoger cualquiera de las tres formulaciones para realizar el análisis del perfil de aminoácidos y microbiológico según los objetivos planteados.

**Figura 8:** Análisis de las tres formulaciones

Variable dependiente	Contenido de Proteína				
	Tipo	III.	Media	F	Sig.
Fuente	Suma	de	cuadrática		
	cuadrados	df			
Tratamiento	0,025	2	0,013	0,122	0,886

### Valor de significancia de los tratamientos

Es decir que estadísticamente con la cantidad de datos analizados (15 datos) no se pudo demostrar que hay diferencias significativas. Por lo tanto, se considera la media de las formulaciones como un indicador para la selección del tratamiento con el mayor contenido de proteínas y con ello realizar el análisis del perfil de aminoácidos.

En la Tabla 6 se muestra los valores de la media de cada formulación.

**Figura 9:** Media de las tres formulaciones

Tratamientos	
Variable dependiente:	Contenido de proteína
Tratamiento	Media
1	13,434
2	13,352
3	13,342

### Media del contenido de proteína de las tres formulaciones

Para analizar el perfil de aminoácidos se seleccionó la formulación 1 dado que la media es levemente más alta en comparación a la media de la formulación 2 y la formulación 3 como se observa en la tabla.

### Determinación del perfil de aminoácidos de la formulación seleccionada

El perfil de aminoácidos de la formulación 1 fue analizado por el laboratorio analítico UBA acreditado. Los resultados fueron presentados en unidades de g aminoácido / 100 g muestra (g AA / 100 g) como se detalla en la Tabla 7.

**Figura 10:** Perfil de aminoácidos esenciales y no esenciales de la formulación 1

<b>Perfil de aminoácidos</b>		
<b>Parámetros</b>	<b>Resultados</b>	<b>Unidad</b>
Ácido Aspártico	1,08	
Ácido Glutámico	2,3	
Serina	0,58	
Histidina	0,30	
Treonina	0,44	
Glicina	0,42	
Arginina	0,91	
Alanina	0,56	
Tirosina	0,52	g AA/100 g muestra
Valina	0,57	Base húmeda (p/p)
Triptófano	1,27	
Metionina	0,19	
Fenilalanina	0,60	
Isoleucina	0,45	
Leucina	0,86	
Lisina	0,76	
Cisteína	0,29	
<b>Aminoácidos totales</b>	<b>12,1 p/p</b>	

### Perfil de aminoácidos de la formulación con mayor contenido de proteínas

La Tabla 7 indica que la formulación 1 contiene mayor cantidad de ácido glutámico y triptófano, y menor cantidad de metionina.

### Comparación del perfil de aminoácidos de la formulación seleccionada con el perfil de aminoácidos dado por la FNB/IOM y FAO

La Tabla 8 detalla el perfil de aminoácidos esenciales de la formulación 1, el perfil de aminoácidos descrito por el Comité de Alimentación y Nutrición del Instituto Americano de Medicina (FNB/IOM) para niños de 1 a 3 años y el perfil de aminoácidos descrito por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) para niños lactantes, mayores de 3 años, adolescentes y adultos.

**Figura 11:** Perfil de aminoácidos esenciales de la formulación 1

<b>Perfil de aminoácidos esenciales</b>						
<b>Parámetros</b>	<b>Resultados</b>		<b>FAO</b>	<b>FAO</b>	<b>FNB/IOM</b>	<b>FAO</b>
	<b>Formulación 1</b>		<b>(Recién nacido hasta 6 meses)</b>	<b>Niños de 6 a 3 años</b>	<b>Niños de 1 a 3 años</b>	<b>Niños mayores, adolescentes, adultos</b>
	<b>g AA/100 g muestra</b>	<b>mg AA/g proteína</b>	<b>mg AA/g proteína</b>			
Histidina	0,30	22,33	21	20	18	16
Isoleucina	0,45	33,49	55	32	25	30
Leucina	0,86	64,02	96	66	55	61
Lisina	0,76	56,57	69	57	51	48
Metionina + Cisteína	0,48	35,73	33	27	25	23



Fenilalanina + Tirosina	1,12	83,37	94	52	47	41
Treonina	0,44	32,75	44	31	27	25
Triptófano	1,27	94,54	17	8,5	7	6.6
Valina	0,57	42,43	55	43	32	40
<b>Cumple/No cumple</b>			No cumple	No cumple	Cumple	Cumple

Aminoácidos esenciales de la proteína de la formulación 1

Young y Pellett, 1990; Millward et al., 1990; FAO/WHO/UNU, 1985; FNB/IOM, 2002.

FAO, 2011

El perfil de aminoácidos de la formulación 1 fue transformado de g AA/100 g muestra a mg AA/g proteína mediante la conversión de unidades para la comparación con los niveles de aminoácidos descritos por la FNB/IOM y la FAO. A continuación, la ecuación 3 detalla el procedimiento del cálculo de mg AA/g proteína a partir de g AA/100 g muestra considerando como ejemplo el aminoácido histidina.

Contenido de proteínas de la formulación 1:  $13,434 \frac{g \text{ proteína}}{100 g \text{ muestra}}$

Aminoácido histidina:  $0,30 \frac{g \text{ AA}}{100 g \text{ muestra}}$

Ecuación 3:

$$\frac{0,30 g \text{ AA}}{100 g \text{ muestra}} \times \frac{100 g \text{ muestra}}{13,434 g \text{ proteína}} \times \frac{1000 mg \text{ AA}}{1 g \text{ AA}} = 22,3314 \frac{mg \text{ AA}}{g \text{ proteína}}$$

La comparación del perfil de aminoácidos de la formulación seleccionada con el perfil de aminoácidos detallado por la FAO y la FNB/IOM, indican que esta premezcla cumple con los requisitos mínimos de aminoácidos para ser consumido por niños mayores a 1 año, adolescentes y adultos; pero no es apto para ser consumido por lactantes (< 6 meses) ni para niños menores a 1 año (6 meses a 1 año).

## Análisis microbiológicos de la formulación seleccionada según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2983

La Tabla 9 compara los resultados de los análisis microbiológicos realizados a la formulación 1 con los requisitos microbiológicos estipulados en la norma NTE INEN 2983 para complementos nutricionales Tipo II (Complementos nutricionales que contienen ingredientes botánicos – extractos/ otros ingredientes nutricionales).

**Figura 12:** Análisis microbiológicos de la formulación 1

<b>Análisis microbiológicos</b>				
<b>Requisito</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>	<b>Requisito Tipo II</b>	<b>Cumple/No cumple</b>
Aerobios totales, máx.	UFC/g	$6,0 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	Cumple
Mohos y levaduras, máx.	UFC/g	$3,6 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	Cumple
Enterobacterias, máx.	UFC/g	< 10	$1 \times 10^2$	Cumple
<i>Salmonella</i>	-	ND	ND	Cumple
<i>Escherichia coli</i>	-	ND	ND	Cumple
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	ND	ND	Cumple

Comparación de los análisis microbiológicos de la formulación seleccionada con los requisitos estipulados en la norma NTE INEN 2983.

La formulación 1 cumple con todos los requisitos microbiológicos para complementos nutricionales Tipo II estipulados en la norma NTE INEN 2983.

## Discusión

El cumplimiento de las etapas para el desarrollo de la formulación del suplemento resultó crucial para obtener un producto final de buena calidad y con las características deseadas. Tal como lo menciona Cámpora (2016) la generación de conocimiento y de tecnologías orientadas al

desarrollo de los productos, a su diferenciación en el mercado y a su valorización, resultan elementos fundamentales en la generación de propuestas de alimentos que respondan a necesidades concretas de la población. No solo con el objetivo de responder a las demandas de la cadena de valor y de la calidad implícita esperada por los consumidores sino también para contribuir en propuestas con mayor competitividad en los sectores agroindustriales.

El elemento de mayor repercusión en el desarrollo de productos se fundamenta en la implementación de técnicas de calidad, que junto a la innovación permiten alcanzar los objetivos planteados ya sea de investigación o de recursos económicos deseados con un nuevo producto a nivel empresarial. Según lo indica Zapata-Gómez (2013) ese alcance de la calidad en el diseño de una formulación implica la integración de conocimientos que contribuyen a establecer las bases de una estructura que puede ser llevada a un campo productivo otorgando estrategias para mantenerse en el mercado. Estos elementos en la formulación de productos, han sido tomados en cuenta para el desarrollo del suplemente detallado en la presente investigación.

Los resultados del contenido de proteínas de la premezcla a base de avena y polvo de arveja (cereal y leguminosa) concuerdan con la investigación realizada por el autor Santillán (2018), el cuál desarrolló mezclas alimenticias a base de cuatro cereales y cuatro leguminosas con el fin de obtener la combinación de mejor calidad aminoacídica (lisina, metionina, cisteína, treonina, triptófano, histidina). Los cereales utilizados fueron el arroz (*Oryza sativa*), el trigo (*Triticum aestivum*), la avena (*Avena sativa*) y el maíz (*Zea mays*); y las leguminosas utilizadas fueron el chocho (*Lupinus mutabilis*), la arveja (*Pisum sativum*), la lenteja (*Lens culinaris*), y el frijol (*Phaseolus vulgaris*). De 144 mezclas alimenticias 99 tenían la calidad biológica deseada. Adicionalmente, obtuvo como resultado que las mezclas con mayor proporción de cereal (mezclas cereales:leguminosas 2:1) presentaban valores más altos de aminoácidos. Por lo tanto, se comprueba que la mezcla de un cereal más una leguminosa forma proteínas de alto valor biológico y se confirma que los resultados obtenidos del diseño experimental fueron los correctos, dado que para realizar el análisis del perfil de aminoácidos se seleccionó la formulación con mayor valor proteico según las medias obtenidas y cuya proporción de cereal resultó también ser mayor según las formulaciones planteadas. Por otra parte, los autores Fernández y Guivar (2016) determinaron el contenido proteico y el aporte energético de una formulación a base de dos leguminosas y un cereal (arveja, tarwi y kiwicha), obteniendo como resultado que la formulación con 25 % de arveja, 25 % de tarwi y 50 % de kiwicha (amaranto)

tiene un mayor contenido proteico donde el 65% corresponde a la kiwicha. Una vez más, se reafirma que el cereal brinda mayor contenido de proteínas y por tanto mayor proporción de aminoácidos en una mezcla que también contenga leguminosas.

El valor biológico de una proteína (para satisfacer las necesidades de aminoácidos) es determinado por su disponibilidad en el alimento y por la corrección de digestibilidad de cada aminoácido, es decir, la proporción absorbida del aminoácido consumido. El alcance de esta investigación se limita al análisis de la disponibilidad de aminoácidos en el alimento, considerando como fuente principal de verificación el perfil de aminoácidos dado por el Comité de Alimentación y Nutrición del Instituto Americano de Medicina (FNB/IOM) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Estos organismos internacionales detallan los valores mínimos requeridos de cada aminoácido para diferentes grupos etarios.

El perfil de aminoácidos de la premezcla a base de harina de avena y polvo de arvejas cumplió con todos los valores detallados en las tablas de la FNB/IOM y la FAO exceptuando a los indicados para lactantes. En este caso, los lactantes se consideran como un grupo especial, dado que los valores de los aminoácidos detallados en las tablas de la FNB/IOM y la FAO están basados en el contenido bruto de aminoácidos de la proteína de la leche humana, ya que son la mejor estimación de requerimientos para este grupo de edad.

La FNB/IOM y la FAO recomiendan realizar la estimación de la cantidad de cada aminoácido que puede ser absorbida por el tracto digestivo (la digestibilidad de cada aminoácido) para obtener un mejor enfoque de la proteína o de la combinación de proteínas de un alimento.

Finalmente, es importante mencionar que la mezcla propuesta cumple con los requisitos microbiológicos según lo indicado en la normativa de referencia Norma Técnica Sanitaria 071-MINSA/DIGESA V-01 (2008).

## Referencias

1. Agencia de la ONU para los refugiados. (Febrero de 2018). ¿Conoces los síntomas de la desnutrición? Obtenido de eacnur.org.
2. Cámpora, M. C. (2016). Alimentos funcionales: tecnología que hace la diferencia. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 42(2), 131-137.

3. Cantril, J. (2022). Concentrado de proteínas de arvejas en los alimentos para Tilapias. Obtenido de Aquafeed: <https://aquafeed.co/entrada/concentrado-de-prote-nas-de-arvejas-en-los-alimentos-para-tilapias-20116/>
4. Castillo, G., Villar, J., Montano, R., Martínez, C., Pérez, F., Albacete, A., . . . Acosta, M. (2011). Cuantificación por HPLC del contenido de aminoácidos presentes en el FITOMAS-E. Murcia, España: ICIDCA.
5. Castro, G. (2005). Evaluación de harinas de arveja (*Pisum sativum* L.) de tres cultivares, como sustituto parcial de harina de pescado, en la formulación de alimento para salmónidos. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
6. Cervera, P., Clapés, J., & Rigolfas, R. (2004). Alimentación y dietoterapia. Madrid: Mc Graw-Hill.
7. Coila, G. (2020). Aporte de aminoácidos esenciales en mezclas alimenticias de origen vegetal por métodos computacionales. Juliaca - Perú: Universidad Peruana Unión.
8. De Castro, N., & De Curtis, M. L. (Enero de 2002). Método de la membrana filtrante para el análisis microbiológico del agua. Obtenido de Laboratorio de Microbiología.
9. ESPOL. (2016). Determinación de proteína. Guayaquil, Ecuador.
10. FAO. (1992). FAO/ UNDP Field Document ADCP/REP/85/22. Chile.
11. FAO. (2011). Evaluación de la calidad de proteínas en la dieta humana. Auckland, Nueva Zelanda: FAO.
12. FAO, OPS, WFP, & UNICEF. (2018). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe 2018. 132.
13. FAO/WHO/UNU (United Nations University). (1985). Energy and Protein Requirements. Geneva, Suiza: WHO.
14. Fernández, J., & Guivar, C. (2016). Formulación de harina proteica y extruida a base de harina de: arveja (*Pisum sativum*), kiwicha (*Amaranthus caudatus*) y tarwi (*Lupinus mutabilis*). (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
15. Freire, W., Ramírez, M. J., Belmont, P., José, M. M., Silva, K., Romero, N., & Sáenz, K. (2013). RESUMEN EJECUTIVO. TOMO I. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Obtenido de [ecuadorencifras.gob.ec](http://ecuadorencifras.gob.ec).

16. Freire, W., Ramirez, M. J., Belmont, P., Mendieta, M. J., Silva, K., Romero, N., . . . Monge, R. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Quito.
17. Hernández, Á. (2005). Tratado de Nutrición. Tomo 1. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Madrid: Acción Médica.
18. Hernández, Á. (2010). Tratado de Nutrición. Tomo III. Nutrición Humana en el Estado de Salud. Panamericana.
19. Institute of Medicine of the National Academies. (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty acids, Cholesterol, Proteins and Amino Acids. En INTAKE OF TOTAL PROTEIN AND AMINO ACIDS. Protein quality (pág. 682). Washington D.C.: The National Academies Press.
20. Institute of Medicine of the National Academies. (2005). Dietary References Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty acids, Cholesterol, Proteins and Amino acids. En INTAKE OF TOTAL PROTEIN AND AMINO ACIDS. Protein Quality (pág. 14). Washington D.C: The National Academic Press.
21. Martínez, O., Pérez, J., & Ramírez, E. (2015). Estudio del mecanismo de gelatinización del almidón nativo de plátano exportable del Ecuador. I Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología UTMACH.
22. Mataix, J. (2013). Nutrición para Educadores. En Proteínas (pág. 95). Madrid: Ediciones Diaz de Santos S.A.
23. Microbiology and Sterility Assurance. (2021). Pruebas de enumeración microbiana 2021: Suplementos nutricionales y dietéticos. Obtenido de U.S. Pharmacopeia: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_c2021.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c2021.html)
24. Millward, D., Price, G., Pacy, P., & Halliday, D. (1990). Maintenance protein requirements: The need for conceptual re-evaluation. Proc Nutr Soc 49:473–487.
25. Montgomery, D. (2004). Diseño y análisis de experimentos. México: Limusa Wiley.
26. Organización Mundial de la Salud. (1 de abril de 2020). Malnutrición. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
27. Pettersson, A., Lindberg, J., Thomke, S., & Eggum, B. (1996). Nutrient digestibility and protein quality of oats differing in chemical composition evaluated in rats and by an in vitro technique. Animal Feed Science Technology, 207.

28. Quiroz, G., Bravo, D., Márquez, C., Paucar, E., Alvear, J. A., Paguay, G., . . . Pesantes, E. (2020). La erradicación de la desnutrición infantil, otra deuda de Ecuador. *El Comercio*.
29. Saltos, A. (20 de Octubre de 2019). Hambre cero en Ecuador. *El Universo*.
30. Santillán, E. (2018). Sobre el desarrollo de mezclas de alimentos andinos aminoacídicamente completas de bajo costo para la alimentación infantil. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*.
31. Wehrhahne, L. (2017). Avena Planta medicinal del 2017. *Agrobarrow*, 2.
32. Young, V., & Pellett, P. (1990). Current concepts concerning indispensable amino acid needs in adults and their implications for international nutrition planning. *Food Nutr Bull*, 12: 289–300.
33. Zambrano, R. (27 de Septiembre de 2020). "En Ecuador hay hambre y desnutrición; afectados, los niños son los más afectados", dice vicepresidenta. *El Universo*.
34. Zapata-Gomez, A. (2013). Efecto de las técnicas de ingeniería de la calidad en el diseño de productos. *Ingeniería y Universidad*, 409-425.