



FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL Y DE SISTEMAS

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DEL HÍGADO DE OVINO MEDIANTE LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA(MSR)

Línea de investigación: Competitividad industrial, diversificación productiva y prospectiva

Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autor

Sandoval Zárate, Isaac Isaú

Asesor

Quispe Prado, Wilber

ORCID: 0000-0003-2452-3669

Jurado

Benavides Cavero, Oscar

Castro Retes, Augusto Ángel

Bazán Briceño, José Luis

Lima - Perú

2025

RECONOCIMIENTO - NO COMERCIAL - SIN OBRA DERIVADA (CC BY-NC-ND)







FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL Y DE SISTEMAS

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS DEL HÍGADO DE OVINO MEDIANTE LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA(MSR)

Línea de investigación:

Competitividad industrial, diversificación productiva y prospectiva

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autor:

Sandoval Zárate, Isaac Isaú

Asesor:

Quispe Prado, Wilber

ORCID: 0000-0003-2452-3669

Jurado:

Benavides Cavero, Oscar

Castro Retes, Augusto Ángel

Bazan Briceño, José Luis

Lima – Perú

2025

Dedicatoria

A mi madre por su amor incondicional y apoyo constante a lo largo de mi vida y a mis hijas por ser mi motivo e inspiración en cada paso que doy.

Agradecimiento

- Agradezco hondamente a mi asesor, Dr. Wilber Quispe Prado, por su guía y apoyo invaluables durante el desarrollo de este trabajo. Su experiencia y consejos fueron fundamentales para la culminación de esta investigación.
- También quiero expresar mi agradecimiento a los miembros del comité evaluador por sus valiosas sugerencias y comentarios que enaltecieron este proyecto.
 - Finalmente, agradezco a mi familia por su amor, comprensión y aliento constante, que me dieron la fuerza para perseverar y completar esta etapa importante de mi vida.

ÍNDICE

RES	SUMI	EN	. V111
ABS	STRA	ACT	ix
I.	INT	RODUCCIÓN	1
1	.1.	Descripción y formulación del problema	2
1	.2.	Antecedentes	3
1	.3.	Objetivos	7
1	.4.	Justificación	7
1	.5.	Hipótesis	9
II.	MA	RCO TEÓRICO	10
2	.1.	Producción de carne bovina en el Perú	10
2	.2.	Tendencias históricas de la producción de carne bovina en el Perú	10
2	.3.	Producción anual de carne bovina en el Perú	11
2	.4.	Producción de carne bovina a nivel internacional	13
2	.5.	Extracción de proteínas	14
III.	M	ÍÉTODO	17
3	.1.	Tipo de investigación	17
3	.2.	Ámbito temporal y espacial	17
3	.3.	Variables	17
3	.4.	Población y muestra	18
3	.5.	Instrumentos	18
3	.6.	Procedimientos	19

3.7.	. Análisis de datos	29
3.8.	. Consideraciones éticas	30
IV.	RESULTADOS	31
4.1.	. Análisis proximal del hígado de ovino	31
4.2.	. Resultados de la optimización de la extracción alcalina	32
V. D	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
VI.	CONCLUSIONES	51
VII.	RECOMENDACIONES	52
VIII.	REFERENCIAS	53
IX.	ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables	17
Tabla 2. Resultado del análisis proximal del hígado fresco de ovino	31
Tabla 3. Influencia del pH de extracción en la solubilidad proteica	32
Tabla 4.Análisis de la Varianza para pH de extracción (PEX)	32
Tabla 5. Influencia de harina: solvente en la solubilidad proteica	33
Tabla 6. Análisis de la Varianza para harina: solvente en la solubilidad proteica	34
Tabla 7. Influencia de la temperatura en la solubilidad proteica	35
Tabla 8. Análisis de la Varianza para Temperatura en la solubilidad proteica	35
Tabla 9. Análisis de Varianza del Screening	37
Tabla 10. Variables y niveles codificados para la optimización	38
Tabla 11. Diseño experimental compuesto central rotable	39
Tabla 12. Elección del modelo matemático para el rendimiento de proteína extraída	40
Tabla 13. Resultado del análisis proximal de proteína aislado de hígado de ovino	44
Tabla 14. Propiedades funcionales del aislado proteico de hígado de ovino	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción de carne bovina en el Perú (2010-2020)
Figura 2. Figura del hígado cara inferior y posterior
Figura 3. Diagrama de flujo para la extracción alcalina de proteínas de hígado de ovino27
Figura 4. Grafica de análisis proximal del hígado de ovino fresco
Figura 5. Grafica de la Influencia del pH de extracción en la solubilidad proteica
Figura 6. Grafica de la Influencia de la relación harina: agua en extracción
Figura 7. Grafica de la Influencia de la Temperatura en extracción
Figura 8 Grafica De Superficie Respuesta de pH de extracción y temperatura de extracción 40
Figura 9 Grafica de contornos para PEX vs TE
Figura 10. Grafica De Superficie Respuesta de pH de extracción y relación mp/solvente41
Figura 11. Grafica de contornos para PEX vs AHS42
Figura 1.2. Grafica De Superficie Respuesta de TE y relación mp/solvente42
Figura 11. Grafica de contornos para TE vs AHS

RESUMEN

Objetivo: Optimizar la extracción de proteínas del hígado ovino, evaluando los factores que afectan al rendimiento y a la composición proteica para mejorar las propiedades funcionales del aislado proteico extraído. Metodología: Utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM), variamos parámetros como el pH, la temperatura y la proporción de materia prima y disolvente. Se realizaron análisis de composición proximal tanto en el hígado crudo como en el aislado proteico resultante. También se evaluaron las propiedades funcionales, incluidas las capacidades de absorción de agua y aceite. Resultados: Se comprobó que la composición proximal del hígado ovino contenía un 16,33% de proteínas, un 70,78% de humedad, un 2,12% de hidratos de carbono, un 2,34% de cenizas y un 8,43% de grasa. Los parámetros óptimos de extracción se identificaron como un pH de 9,5, una temperatura de 35 °C y una relación materia prima/disolvente de 1:12. El aislado de proteína alcanzó una composición de 75,9% de proteína, 5,42% de humedad, 3,42% de carbohidratos, 6,04% de ceniza y 9,2% de grasa. El análisis funcional indicó una impresionante capacidad de absorción de agua de hasta 3,25 g de agua/g de proteína y una absorción de aceite de 2,72 g de aceite/g de proteína. El rendimiento global de la extracción alcalina se calculó en un 13,4%. Conclusiones: Los resultados demuestran la eficacia de la optimización de las condiciones de extracción para mejorar significativamente el contenido proteico y las propiedades funcionales de los aislados de proteína de hígado de ovino. Este estudio sienta las bases para futuras aplicaciones en la industria alimentaria y el desarrollo de ingredientes funcionales.

Palabras clave: Hígado de ovino, Extracción de proteínas, Metodología de superficie de respuesta, Propiedades funcionales, Aislado de proteínas.

ABSTRACT

Objective: To optimize the extraction of proteins from sheep liver, evaluating the factors affecting the yield and protein composition to improve the functional properties of the extracted protein isolate. Methodology: Using response surface methodology (RSM), we varied parameters such as pH, temperature and ratio of raw material and solvent. Proximal composition analyses were performed on both the raw liver and the resulting protein isolate. Functional properties, including water and oil absorption capacities, were also evaluated. Results: The proximate composition of sheep liver was found to contain 16.33% protein, 70.78% moisture, 2.12% carbohydrate, 2.34% ash and 8.43% fat. Optimal extraction parameters were identified as a pH of 9.5, a temperature of 35 °C and a raw material/solvent ratio of 1:12. The protein isolate achieved a composition of 75.9% protein, 5.42% moisture, 3.42% carbohydrate, 6.04% ash and 9.2% fat. Functional analysis indicated an impressive water absorption capacity of up to 3.25 g water/g protein and oil absorption of 2.72 g oil/g protein. The overall alkaline extraction yield was calculated to be 13.4%. Conclusions: The results demonstrate the efficacy of optimizing extraction conditions to significantly improve the protein content and functional properties of sheep liver protein isolates. This study lays the foundation for future applications in the food industry and the development of functional ingredients.

Keywords: Sheep liver, Protein extraction, Response surface methodology, Functional properties, Protein isolate.

I. INTRODUCCIÓN

La extracción de proteínas constituye una etapa crucial en diversas aplicaciones biotecnológicas y alimentarias, ya que estas biomoléculas desempeñan funciones esenciales en procesos metabólicos, estructurales y bioquímicos. En el marco de los estudios actuales, el hígado ovino se presenta como una fuente rica y útil de proteínas que pueden ser extraídas no solo para la producción de alimentos, sino también para la síntesis de compuestos bioactivos con efectos beneficiosos para la salud.(Mirambell, 2020).

Múltiples factores, incluyendo el pH, la temperatura, la duración de la extracción y la relación solvente-muestra, pueden, sin embargo, influir en la efectividad de la extracción de estas proteínas. (Ferrer et al., 2020).

Además de aumentar el rendimiento de extracción, optimizar estos parámetros ayuda a mejorar la calidad de las proteínas producidas. Así, la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) se ha posicionado como una herramienta estadística útil para modelar y evaluar las interacciones entre los factores involucrados en el proceso de extracción. (León, 2018).

Mediante el uso de MSR, es factible llevar a cabo estudios planificados deliberadamente con el objetivo de determinar el entorno ideal para la máxima extracción de proteínas del hígado ovino. Esta estrategia no solo ayuda a que los negocios asociados sean más económicamente viables, sino que también promueve el uso sostenible de los recursos. Por lo tanto, el trabajo actual intenta examinar y maximizar el proceso de extracción de proteínas del hígado de oveja mediante la Metodología de Superficie de Respuesta, avanzando así en el conocimiento en el área de la biotecnología alimentaria.

1.1. Descripción y formulación del problema

Dado que las proteínas son tan importantes para la nutrición y la salud, la extracción efectiva de las mismas del hígado ovino es crucial para muchos usos biotecnológicos y alimentarios. Pero las técnicas de extracción convencionales a menudo proporcionan bajos rendimientos y deterioro de la calidad de las proteínas debido a condiciones de procesamiento insuficientes. Para el sector alimentario y la investigación, donde la demanda de productos premium ricos en proteínas está en constante aumento, esto representa un obstáculo significativo. (Quintero y Zapata, 2017)

Dado que permite la optimización de muchas variables involucradas en el proceso de extracción, se propone la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) como una herramienta poderosa para resolver este problema. Mediante el uso de un diseño experimental metódico, la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) puede encontrar las configuraciones ideales que aumenten la producción de proteínas y minimicen la pérdida de calidad. No obstante, el uso de este enfoque en la extracción de proteínas del hígado ovino es actualmente raro y poco estudiado, lo que restringe su relevancia práctica y el conocimiento de su posible valor. (Omote, 2019)

Así, el propósito del estudio es diseñar una metodología eficiente que optimice el rendimiento proteico y la calidad de las proteínas extraídas mediante la optimización de la extracción de proteínas del hígado ovino utilizando la Metodología de Superficie de Respuesta. Además de ayudar al crecimiento de la biotecnología alimentaria, este estudio ofrecerá nuevas oportunidades en la creación de productos dietéticos creativos y respetuosos con el medio ambiente.

1.1.1. Problema general

¿Cuáles son los parámetros óptimos, determinados mediante la metodología de superficie de respuesta, que permiten maximizar el rendimiento y la calidad de las proteínas

extraídas del hígado de ovino?

1.1.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la composición proximal del hígado de ovino?
- ¿Cuáles son los parámetros óptimos de pH, temperatura y relación materia prima/solvente en la extracción alcalina del aislado proteico de hígado de ovino?
- ¿Cuál es la composición proximal del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados?
- ¿Cuáles son las propiedades funciónales del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados?
- ¿Cuál es el rendimiento de la extracción alcalina en función al peso total del hígado de ovino como proteína?

1.2. Antecedentes

1.2.1. A nivel internacional

Xiong et al. (2016) investigaron la eficiencia de la extracción y la composición de las proteínas obtenidas del hígado de pollo después de la extracción por solubilización ácida y alcalina a diferentes valores de pH, y posterior precipitación a pH 5,5. El mayor rendimiento de proteína extraída se logró a pH 2,0, 11,5 y 12,0, mientras que el menor se obtuvo a pH 3,5. La extracción a pH ácido y alcalino recuperó una variedad de proteínas solubles e insolubles. El tratamiento ácido produjo mayores niveles de pigmentos, siendo el más alto a pH 2,5. Los análisis de SDS-PAGE revelaron que la extracción alcalina obtuvo concentraciones más altas de cadenas pesadas de miosina y actina en comparación con el tratamiento ácido. El tratamiento ácido-alcalino permite extraer valiosas proteínas que se pueden usar para desarrollar nuevos productos, lo cual aumenta el consumo de hígado de pollo por parte de las personas.

Zou et al. (2017) investigaron el impacto de la extracción con ultrasonido en las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales del aislado de proteína de hígado de

pato (UDLPI). Los polvos de hígado desengrasado se sometieron a ultrasonidos a 24 kHz, 266 W, con un ciclo de encendido/apagado de 2/3 s durante 42 minutos a pH 11,2. Los resultados mostraron que el rendimiento y el contenido de proteína del UDLPI aumentaron en un 67,7% y un 4,6% respectivamente, en comparación con la extracción alcalina convencional (DLPI). El tratamiento con ultrasonidos pudo provocar una hidrólisis y desnaturalización parcial de las proteínas, lo que resultó en un aumento de la hidrofobicidad, la carga superficial y las propiedades gelificantes. El tamaño de partícula del UDLPI disminuyó de 177,8 nm a 156,0 nm. Además, los ultrasonidos mejoraron el módulo de almacenamiento y la solubilidad del aislado. La formación de espuma fue particularmente intensa en comparación con el DLPI. Sin embargo, los resultados sobre la estabilidad de la espuma, los grupos sulfhidrilo reactivos/totales y la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio no mostraron diferencias significativas entre el UDLPI y el DLPI (P > 0,05).

Song et al. (2024) investigaron la ferritina es una proteína que contiene hierro y se encuentra ampliamente en todos los organismos. Su función es regular el equilibrio metabólico del hierro en los organismos. La ferritina puede extraerse de subproductos animales y convertirse en componentes de valor agregado, promoviendo así una economía circular. Este estudio estableció un método para extraer ferritina del hígado bovino (BLFer) utilizando un sistema de amortiguación con asistencia de ultrasonido. Las condiciones óptimas de extracción se determinaron a través de experimentos de optimización, incluyendo una temperatura de ultrasonido de 70 °C, un tiempo de extracción de 25 minutos, una potencia ultrasónica de 400 W y una relación solvente-sólido de 2 mL/g, dando como resultado un rendimiento experimental de ferritina de 32,18 ± 0,12 g/kg. En comparación con los métodos tradicionales, la extracción asistida por ultrasonido mejoró el rendimiento y la estabilidad estructural de la ferritina. El análisis bioinformático reveló que el BLFer es una proteína hidrofílica con una alta estabilidad térmica. Además, el BLFer tiene un centro activo de oxidasa ferrosa, que

desempeña un papel importante en la precipitación oxidativa y la liberación reductora del hierro. Las piezas son bastante resistentes y mantienen una buena estabilidad después de someterse a un proceso de tratamiento térmico.

Paula et al. (2023) evaluaron el uso de soluciones acuosas y salinas, así como el tratamiento con nitrito de sodio, para extraer proteínas de subproductos comestibles de cerdo (corazón e hígado) utilizando la técnica de cambio de pH. Se obtuvieron curvas de solubilidad de proteínas y se determinaron el pH óptimo de solubilidad (PS) y precipitación (punto isoeléctrico, pI). La adición de sal aumentó la solubilidad en pH alcalino (11,0) para ambos subproductos, con un valor de 2,0 para el hígado y 3,0 para el corazón. Los rendimientos de precipitación de la proteína total fueron menores en los extractos acuosos de corazón (71,75%) que en los otros extractos (84,23%), pero el rendimiento de precipitación de los pigmentos hemo totales (77,63%) no se vio afectado por los tratamientos o el tipo de subproducto. El rendimiento de recuperación de proteína fue mayor en los extractos de hígado (68,04%) que en los extractos de corazón (49,98%), independientemente de la solución de extracción utilizada.

Khaled et al. (2024) desarrollaron un método confiable de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución cuadrupolar-Orbitrap (LC-QOrbitrap HRMS) para identificar y cuantificar simultáneamente 13 residuos de β-agonistas en diferentes matrices alimentarias como hígado, carne, leche, riñón, aves y huevo de bovino. La preparación de las muestras se realizó mediante extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) con acetonitrilo. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna Accucore aQ de fase inversa, utilizando una fase móvil compuesta por una solución acuosa de acetato de amonio 2mM y acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico. El método se validó siguiendo los requisitos del Reglamento de Ejecución de la Comisión (UE) 2021/808 en seis niveles de concentración entre 0,1 y 5 μg/kg, obteniendo recuperaciones entre el 65 y 94%, repetibilidad y reproducibilidad menores al 13%, y linealidad con coeficientes de correlación entre 0,9955 y

0,9999. Los límites de decisión (CCa) y capacidad de detección (CCβ) se encontraron en el rango de 0,11-0,13 μg/kg y 0,12-0,15 μg/kg, respectivamente. Los niveles de residuos de β-agonistas en las muestras fueron de 0,004-0,048 μg/kg y 0,010-0,075 μg/kg, respectivamente. De las 180 muestras recolectadas en los mercados locales de Egipto, el 21,11% contenían residuos de estos compuestos. Los β-agonistas más comunes detectados fueron terbutalina (2,63 μg/kg y 90% de frecuencia) y ractopamina (5,14 μg/kg y 23,3% de frecuencia). Además, el método utilizado se validó satisfactoriamente a través de dos rondas de pruebas de aptitud.

1.2.2. A nivel nacional

Chirinos et al. (2024) evaluaron la recuperación de proteínas de la torta de sacha inchi (SI) mediante dos métodos: la extracción alcalina convencional (SIC) y la extracción asistida por ultrasonidos (SIUS). El método SIUS, optimizado mediante la metodología de superficie de respuesta, produjo un concentrado de proteína en polvo con alrededor de un 72% de contenido proteico, en comparación con alrededor de un 77% para el método SIC. El concentrado de proteína SIUS mostró algunas diferencias en las características fisicoquímicas y estructurales, como un color ligeramente más oscuro, una distribución del tamaño de las partículas más estrecha, una mayor superficie específica y una desnaturalización más evidente. El análisis estructural mediante espectroscopia FTIR y de dicroísmo circular reveló cambios en la estructura secundaria de las proteínas, con una disminución de la configuración en β-hoja y un aumento de la configuración en β-vuelta para las proteínas SIUS, así como una disminución de la α-hélice y un aumento de la configuración en espiral aleatoria y β-hoja para las proteínas solubles. El texto analiza los posibles usos futuros de los concentrados de proteínas de torta SI en la industria alimentaria.

Arzapalo et al. (2015) extrajeron y caracterizaron química, fisicoquímica y funcionalmente los almidones de tres variedades de quinua: negra Collana, roja Pasankalla y blanca Junín. Los análisis químicos revelaron diferencias significativas en los rendimientos de

extracción, siendo la variedad blanca Junín la de mayor rendimiento (30,62%), seguida de la roja Pasankalla (26,71%) y la negra Collana (18,95%). Las propiedades funcionales de los almidones mostraron baja solubilidad y limitado poder de hinchamiento, sin diferencias significativas entre variedades. Presentaron un alto rango de temperatura de gelatinización (66-69°C) y viscosidades variables, con un pico máximo para la variedad negra Collana. Además, se observó una alta estabilidad al descongelamiento y baja retrogradación, con diferencias significativas entre variedades, sugiriendo su potencial uso en productos sujetos a estos procesos.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Optimizar el proceso de extracción de proteínas del hígado de ovino mediante la metodología de superficie de respuesta para maximizar el rendimiento y la calidad de las proteínas obtenidas.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el análisis proximal del hígado de ovino
- Determinar los parámetros óptimos de pH, temperatura y relación materia prima/solvente en la extracción alcalina del aislado proteico de hígado de ovino
- Determinar el análisis proximal del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados.
- Determinar las propiedades funciónales del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados.
- Determinar el rendimiento de la extracción alcalina en función al peso total del hígado de ovino como proteína.

1.4. Justificación

La extracción eficiente de proteínas del hígado de Ovino es de suma importancia en el

ámbito de la biotecnología y la nutrición, con aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y en la investigación biomédica. A pesar del valor nutricional y funcional que estas proteínas ofrecen, los métodos de extracción convencionales suelen ser ineficaces, resultando en rendimientos bajos, costos elevados y, en ocasiones, en la desnaturalización de las proteínas extraídas. (Arcos, 2024)

La metodología de superficie de respuesta (MSR) emerge como una herramienta innovadora que puede abordar estas limitaciones a través de un enfoque sistemático y estadístico para optimizar las condiciones de extracción. Este enfoque permite evaluar simultáneamente múltiples variables que afectan el proceso, como el pH, la temperatura, el tiempo de extracción y la relación de solvente a biomasa.

A través de la aplicación de MSR, se espera no solo maximizar el rendimiento de proteínas extraídas, sino también mejorar su calidad funcional y estabilizar sus propiedades bioactivas. Esto es fundamental, ya que las proteínas del hígado de Ovino presentan un potencial significativo debido a su perfil de aminoácidos y sus propiedades antioxidantes, lo que las convierte en un ingrediente valioso en productos alimenticios y suplementos dietéticos.

Además, la optimización de este proceso tiene un impacto positivo en la sostenibilidad, ya que la mejora en las tasas de extracción puede contribuir a un uso más eficiente de los recursos animales, favoreciendo una producción más responsable y ética. Así, esta investigación no solo busca resolver problemas técnicos relacionados con la extracción de proteínas, sino que también promueve un enfoque holístico hacia la utilización de subproductos industriales, aportando beneficios económicos y ambientales.

En conclusión, esta investigación será pionera en la aplicación de la MSR para la extracción de proteínas del hígado de Ovino, abriendo nuevas avenidas para la creación de productos innovadores, mejorando la rentabilidad de la industria, y contribuyendo a un modelo de desarrollo más sostenible. (Rosin, 2022)

1.5. Hipótesis

La eficiencia de la extracción de proteínas de hígado de ovino depende de la relación materia prima/solvente, pH y temperatura, tiene influencia significativa de al menos una de estas variables.

.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Producción de carne bovina en el Perú

Cusco, Apurímac, Puno y Abancay conforman el Corredor del Sur en Ayacucho, Junín y Huancavelica. Asimismo, el Corredor del Centro incluye Áncash, Lima, Huancavelica, Huánuco y Pasco. Huánuco, Ucayali y Pasco conforman el llamado Triángulo Productor de la Sierra Central. Ucayali es una de las siete regiones que presentan señales de crecimiento en 2020 debido a su diversidad de mercados, con el subsector de bovinos de doble propósito que lo hacen inmune a la crisis, con excepción de pasivos laborales de productores de leche. Estos resultados generan la necesidad de la revisión, análisis y ajuste del Plan Rector de la Ganadería Nacional, en función de su periodo de vigencia, su misión y visión, el análisis de los escenarios actuales y futuros, y el establecimiento de orientaciones para el periodo 2021 – 2030, bajo el objetivo general del Plan.

En el caso del rodeo bovino, existe información para el año 2019 por departamento: en la Sierra, Cajamarca cuenta con el mayor número de hatos y de cabezas y La Libertad con la mayor cantidad de superficie destinada, población al 2017. En la Costa, al 2019, La Libertad cuenta con el mayor número de hatos y de cabezas y Piura con la mayor cantidad de superficie destinada, población al 2017. En la Selva, San Martín cuenta con el mayor número de hatos, Ucayali con el mayor número de cabezas y la mayor cantidad de superficie, según la población al 2017. Piura, en la Costa, y Ucayali, en la Selva, presentaron incrementos significativos. De los 1.5 millones de cabezas que conforman el hato vacuno, aproximadamente 30% disponen de tecnología de pastos con manejo intensivo.

2.2. Tendencias históricas de la producción de carne bovina en el Perú

Debido a que las cifras anuales de producción de carne bovina cubren ya un período de tiempo relativamente prolongado, es posible analizarlas para determinar cuáles fueron los

desarrollos históricos del sector ganadero peruano, entre los años 2000 y 2016. La serie histórica de datos de la producción bovina muestra una variabilidad alta a lo largo de estos años, pero con tendencia generalmente creciente. Sin embargo, la tasa de crecimiento anual a lo largo de este período fue más lenta que en los años previos; el crecimiento promedio del 2000 al 2011 fue de solo 0.5 por ciento al año, cifra que luego se aceleró a un crecimiento del 7.7 por ciento anual en 2012: un alza sorpresiva y "anormal", que luego fue explicada por la presentación de cifras revisadas del 2011 y estimaciones más altas para 2012, por parte de los entes en cuestión.

En 2013, 2014 y 2015, la producción bovina mostró tasas de crecimiento más moderadas, aunque siempre superiores al promedio del período 2000-2011. Para 2016, las cifras más recientes muestran nuevamente una caída anualizada del 4.3 por ciento. Cabe recordar que estas cifras deben tomarse con cierta cautela, debido a las revisiones constantes que se vienen realizando. Un mejoramiento paulatino de los indicadores técnicos y económicos de la ganadería de carne, y un crecimiento estructurado de sus sistemas productivos con miras a satisfacer las nuevas exigencias del mercado consumidor, habrían de permitir que la producción de carne bovina constituyera una actividad rentable e interesante desde el punto de vista de la inversión y la participación agregada en el mercado de carnes

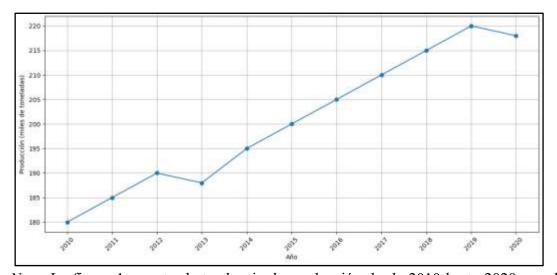
2.3. Producción anual de carne bovina en el Perú

Hasta 2009, los datos provinieron de la Dirección de Estadística Agraria (DEA-MINAG); a partir de 2010, fueron proporcionados por el Banco de Información de Ganadería Bovina, en base a información de la Oficina General de Estadística e Informática (OGEI-MINAG) y de la Oficina de Informática y Apoyo Técnico (OIAT-SAGAMOS-MINAG); en promedio anual de INEI-SADEI. De 2005 a 2010, considerando informes de la Oficina del Consejo Directivo y de la Oficina de Informática y Apoyo Técnico (OIAT) del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) e información del Banco de Información de

Ganadería Bovina, en base a datos de la Oficina General de Estadística e Informática (OGEI) del Ministerio de Agricultura, se ha determinado que el Inventario Nacional de Ganado Bovino es de más de 6 millones de cabezas. A partir de 2011, el Inventario Nacional de Ganado Bovino ha sido considerado a la cifra del INEI. Estadísticas de Producción de Carne Bovina (desde 2005) y en Tipo de: Vigilancia de la Producción de Carne Bovina (durante el presente año) del Banco de Información de Ganadería Bovina, el Ministerio de Agricultura, a través de la Dirección de Promoción Agraria, ha puesto a disposición del público interesado el valioso aporte estadístico realizado por las Direcciones Regionales y/o Oficinas de Agricultura. De acuerdo a la literatura especializada, el Perú se encuentra entre los 20 principales productores de carne bovina en el mundo; entre 1987 y 2012, se observa que el número de cabezas faenadas en el Perú se ha incrementado en 6 puntos porcentuales, creciendo a una tasa promedio anual de 2,8%; en cuanto a la producción de carne bovina en canal, la producción per cápita ha crecido lentamente: desde mediados de la década de 1980 hasta el 2012, la oferta per cápita creció en un punto porcentual, 0,41 kg.

Figura 1

Producción de carne bovina en el Perú (2010-2020)



Nota. La figura 1 muestra la tendencia de producción desde 2010 hasta 2020, con los datos expresados en miles de toneladas. Se puede observar un aumento general en la producción a lo

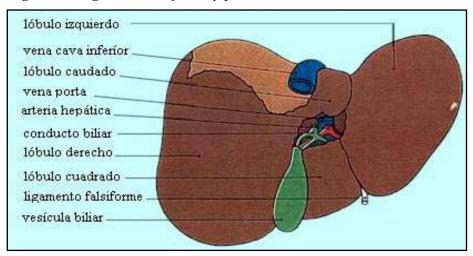
largo de los años, con algunas fluctuaciones. La producción aumentó de 180 mil toneladas en 2010 a 218 mil toneladas en 2020, con un pico de 220 mil toneladas en 2019. Esta visualización proporciona una clara representación de la evolución de la producción de carne bovina en Perú durante la última década

2.4. Producción de carne bovina a nivel internacional

Comparación Internacional A continuación se presentan indicadores seleccionados de producción de carne bovina de diferentes países y se proporciona información adicional al caso peruano. Estados Unidos: El sector bovino contribuye significativamente al mercado de alimentos y personas (un animal por cada tres habitantes). En 2015, la producción de carne bovina se incrementó en 2.6% como respuesta a la reducción de los precios internacionales de los granos, posibilitando recriar mayor cantidad de novillos, sobre todo en áreas del sur y de llano superior. Los principales países que importan carne bovina continúan siendo México, Canadá y Japón. La producción de carne en canal para 2024 se estima un 4% mayor que en 2014, con una disminución de eficiencia para la industria. Específicamente, la eficiencia disminuye debido a un aumento de las importaciones, exportaciones y consumo de carne bovina por cambios en el comportamiento del consumidor en los rubros porcinos y avícolas. Industria Nacional de Productos El Carmen S.A. y Sociedad Ganadera Episcopal S.A. son los dos más importantes consumidores de ganado bovino en pie con fines de exportación. Australia: La producción de carne bovina en 2017 fue mayor a las 2.3 mil millones de toneladas, contrario a lo previsto por los analistas, quienes habían calculado entre 2.6 y 2.9 millones de toneladas. Esta desviación se explica por dos años consecutivos con fuertes sequías, causando que el sacrificio se incremente y la insuficiencia de lluvias afecte los destetes, disminuyendo la oferta. La producción acumulada de enero a junio de 2018 tuvo un incremento de 116 mil toneladas, un 14% en relación con el mismo periodo en 2017.

Figura 2

Figura del hígado cara inferior y posterior



Nota. La figura muestra las partes del hígado tomado de

http://www.anatomia.tripod.com/imagenes de la anatomia hepatica.htm.

2.5. Extracción de proteínas

La extracción de proteínas es una técnica básica para la obtención de compuestos proteicos presentes en una matriz original, ya que las proteínas celulares son libres en el citoplasma, pero no todas son fácilmente disponibles para ser extraídas(Carpio y Lozano, 2023). Este problema se presenta debido a que el citoplasma contiene muchas otras moléculas, algunas de las cuales interactúan con las proteínas, impidiendo o dificultando su extracción. Debido a ello, es necesario degradar o neutralizar todas estas moléculas y, lo que es muy importante, preservar las características intactas de la proteína o conjunto de proteínas que se van a extraer. (Lluch, 2022)

Las proteínas son biomoléculas grandes y complejas que pueden formar estructuras macromoleculares llamadas polipéptidos, compuestas por una o más cadenas de aminoácidos plegadas en una estructura tridimensional específica (Ramos , 2020). Poseen diferentes propiedades fisicoquímicas, como precipitación y coagulación, un bajo grado de solubilidad en agua y solubilidad en disolventes orgánicos, color, etc. Se encuentran estrechamente relacionadas con otra biomolécula esencial en todos los seres vivos, el ácido

desoxirribonucleico; su sinterización está regulada por el ARN y cumplen una diversidad de funciones en el interior de las células y en los organismos, como son las funciones enzimáticas y reguladoras, estructurales, metabólicas, de transporte, entre otras. Guardando a más de estas características, en ciertas circunstancias, las proteínas pueden formar una agrupación sólida y compacta similar a los cristales, a la que se llama precipitado proteico, y estas propiedades coadyuvan al éxito en los métodos de extracción de proteínas celulares.(Gálvez, 2023).

2.5.1. Propiedades y funciones de las proteínas en el hígado de bovino

Según Peñuelas (2024) las proteínas del hígado poseen propiedades funcionales muy útiles en industrias alimentarias como texturización, formación y retención de emulsiones, gelificación, solubilización, absorción de agua y aceite, retención de sabor, color y nutrientes, crecimiento de microorganismos, desarrollo de sabores, aromas, etc. De hecho, muchas veces suelen utilizarse en conjunto con otros hidrocoloides y, en otros casos, pueden sustituir completamente a los hidrocoloides en la industria alimentaria, ya sea porque ofrecen un mayor beneficio técnico-económico o bien que puedan responder con mayor eficiencia en alguna aplicación específica. Frente al colágeno o proteínas musculares, las proteínas hepáticas utilizadas en la industria alimentaria presentan propiedades funcionales bastante buenas y se obtienen a partir de lo que se denomina residuos cárnicos del sector pesquero, ganadero y avícola, con lo que se añade una interesante vertiente medioambiental y de sostenibilidad. Las propiedades funcionales del hígado provienen de que, a nivel bioquímico, es el órgano que más carga negativa tiene, sobre todo a nivel de la forma proteica, residualmente con gran poder de solución, antioxidante y capacidad quelante. Las proteínas del hígado de Ovino (así como de otros animales) son una excelente fuente de proteína. (Chuchuca, 2023)

Las proteínas son fundamentales para el organismo, por su función plástica: forman tejidos como músculos, piel y fibras, pero también son necesarias como enzimas, hormonas y anticuerpos. Un adecuado aporte de proteína es necesario para el correcto desarrollo de las

funciones fisiológicas del organismo, por lo que la cantidad y calidad de dicha proteína, es decir, el importante patrón de aminoácidos que presenta, y la facilidad para ser digerida y absorbida, es imprescindible. (Molina et al., 2024)

2.5.2. Métodos de extracción de proteínas

Los alcoholes de extracción más utilizados para la extracción de proteínas hepáticas se consiguen con bastante eficacia utilizando un tampón Tris-HCl, valorado a pH 7,5. Generalmente, se utiliza el tampón Tris-HCl 0,1 N en una solución diluida al 50%, equivalente a 15 g de Tris y 8,8 g de ácido clorhídrico en 1000 ml de agua destilada. (Benites, 2024)

El peso de las muestras a agitar oscila entre 300 y 500 mg, más la cantidad de fijador y extractante, que siempre se calculará como 10 veces el volumen de tejido en mililitros. El primer paso es pesar la muestra, luego cortar fragmentos y aplastarlos con dos o tres trozos de arena; se añaden 3 volúmenes de fijador por cada volumen de muestra. Agite durante 10 o 15 segundos y coloque las mezclas en un tubo de centrifugado a 5000 rpm durante 10 o 15 minutos. Deseche los líquidos superiores que no se hayan centrifugado y vuelva a añadir la misma cantidad de fijador, agitando siempre de 10 a 15 segundos. Centrifugue de nuevo durante 10 a 15 minutos y deseche el sobrenadante. Añada agua y transfiera ambas mezclas con la glucoproteína a un tubo de sílice o polipropileno. Añada agua y transfiera a contracorriente, cuidando las muestras, dejando un poco de agua y desechando la cantidad de muestra, dejando un minuto y expulsando. (Silva, 2022)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo aplicada, con un nivel de investigación cuantitativa y un diseño experimental. Este tipo de estudio se centra en la aplicación práctica del conocimiento científico para resolver problemas o necesidades específicas. El enfoque cuantitativo implica la recolección y análisis de datos numéricos, lo que permite realizar mediciones precisas y obtener resultados objetivos. El diseño experimental, por otro lado, se caracteriza por la manipulación deliberada de variables independientes para observar y analizar sus efectos sobre variables dependientes en un contexto controlado

3.2. Ámbito temporal y espacial

El estudio se realizará en los laboratorios de procesos agroindustriales y bioquímica de la Universidad Nacional Federico Villarreal durante un periodo de siete meses, comprendido entre los meses de junio a diciembre del año 2024.

3.3. Variables

Tabla 1Operacionalización de variables

Tipo de Variable	Variable	Dimensiones	Indicador
V. Independiente	Factores de T°, pH, materia prima/solvente en la extracción de proteína de hígado de Ovino	Factores de extracción de proteína	Tiempo de extracción Temperatura de extracción pH de la extracción Materia prima/solvente
V. Dependiente	Rendimiento y calidad de la proteína de hígado de Ovino	Propiedades tecno funcionales	Capacidad de retención de agua Capacidad de retención de aceite Actividad emulsionante
		% de rendimiento	Peso de la proteína Extraída

3.4.Población y muestra

3.4.1. Definición

La población es el conjunto completo de elementos o individuos que cumplen con ciertos criterios específicos y sobre los cuales se desea realizar un estudio o análisis. Esta puede incluir personas, objetos, eventos o medidas que son relevantes para una investigación específica.

3.4.2. Población

Hígados de Ovinos de raza criolla del camal de yerbateros. Esto incluye tantos hígados frescos, que puedan proporcionar una variabilidad representativa en términos de composición proteica.

3.4.3. Muestra

El método de muestreo para la presente investigación será método aleatorio simple que consistirá en una muestra de 10 kilos de hígado fresco de Ovino de raza criolla

3.5. Instrumentos

3.5.1. Materiales equipos y reactivos

- Probetas 50, 100, 250 ml.
- Embudo simple y cribado.
- Kitasato de 250 ml
- Beakers de 200, 250, 500 y 1000 ml
- Dosificador de agua destilada.
- Erlenmeyer de 100, 200 y 500 ml.
- Fiola de 10, 100, 250 y 1000 ml.
- Papel filtro Whatman N°1.
- Tubos de centrífuga.
- Parafilm.

- Magnetos de diferentes tamaños.
- Micropipetas de 0,1-5 ml.
- Tubos de ensayo de 12x75 mm.
- Cronómetro.
- Espátula y cuchara y otros
- Balanza analítica (Ohaus Adventurer, Modelo AR2140).
- Bomba de vacío (Vacumbrand GMBH, Modelo 4EKF56CX-4).
- Congeladora (Electrolux).
- Baño María con agitación (GFL).
- Espectrofotómetro (Thermo Electrón Corporation, Modelo Genesys 5).
- Potenciómetro (Aplus Thermo Orión, Modelo 410^a).
- Refrigeradora (LG).
- Sistema de filtración al vacío
- Agitador magnético (IKA).
- Balanza de humedad infrarroja (MERCK).
- Molino (IKA, Modelo A11Basic).
- Agitador Vortex (IKA).

3.5.2. Paquete de software estadístico

En el desarrollo del presente estudio se utilizará el software Design-Expert 13 una herramienta esencial para la presente investigación que posee un enfoque estructurado y estadísticamente sólido en la planificación y análisis de experimentos, mejorando la precisión y validez de los resultados obtenidos.

3.6. Procedimientos

3.6.1. Análisis proximal del hígado de ovino

3.6.1.1 Determinación de humedad (%H). Mediante el Método AOAC 934.06: este

método implica secar la muestra a 105 °C en estufa hasta alcanzar un peso constante.

% H =
$$\frac{Pi-Pf}{Pi}$$
 x100Ec. 1

Donde:

Pi=peso inicial

Pf= peso final

3.6.1.2 Determinación proteína(%P). Mediante el Método AOAC 981.10: Este es el método de Kjeldahl, empleado para determinar el contenido total de nitrógeno, que se multiplica por un factor específico para calcular el contenido de proteína. Este método es ampliamente utilizado para proteínas en carnes y otros productos.

%
$$P = \frac{Nt.Fc.}{Pm} \times 100 \dots Ec.2$$

Donde:

Nt= Nitrógeno total

Fc= Factor de conversión (6.25) que se deriva de la proporción promedio de nitrógeno en las proteínas.

Pm= Peso de la muestra

3.6.1.3 Determinación de grasa (%G). Método AOAC 945.16: Se utiliza el método de extracción de grasa por Soxhlet, que implica el uso de un disolvente orgánico (hexano) para extraer la grasa de las muestras.

%
$$\mathbf{G} = \frac{Pg}{Pm} \times 100 \dots Ec.3$$

Donde:

Pg=peso de la grasa

Pf= peso de la muestra

3.6.1.4 Determinación de Cenizas (%C). Método AOAC 942.05: Este método

determina el contenido de cenizas mediante la incineración de la muestra a una temperatura de aproximadamente 550 °C y pesando el residuo mineral resultante.

%
$$C = \frac{Pc}{Pm} \times 100 \dots Ec.4$$

Donde:

Pc=peso de ceniza

Pm= peso de la muestra

3.6.1.5 Determinación de fibra cruda(%Fc). Método AOAC 962.09 para la determinación de la fibra cruda. Este método implica un proceso de digestión que separa los componentes de la fibra de los otros constituyentes.

% Fc =
$$\frac{Pfs}{Pm}$$
 x100 Ec. 5

Donde:

Pfs=peso de la fibra seca

Pm= peso de la muestra

3.6.1.6 Determinación de carbohidratos (CHO). Los carbohidratos no se determinan directamente como una fracción por sí mismos en el análisis proximal. En cambio, se suelen calcular como la diferencia:

Carbohidratos =
$$100\%$$
 - (%H + %P + %G + %C+%Fc).

Este enfoque puede variar según el tipo de muestra y otros ingredientes que puedan estar presentes, pero es una forma común de estimar el contenido de carbohidratos.

3.6.2. Optimización de la extracción de aislado proteico de hígado de ovino

La optimización comprende tres fases fundamentales que son el screening, escalamiento y la optimización son fases fundamentales en el desarrollo de procesos, particularmente en la extracción y la industria química. Cada etapa tiene su propio propósito y

metodología, y juntas contribuyen al diseño y mejora de procesos eficientes y efectivos. A continuación, se explican cada una de estas etapas.

3.6.2.1 Fase 1. Screening. La extracción de la mayor cantidad de proteína posible utilizando una técnica de separación alcalina es el objetivo principal. Esta técnica nos ayudó a identificar los principales elementos que influyen en el grado de disolución de proteínas, así como en el contenido del producto final. Luego elegimos dos valores para cada elemento y encontramos la mejor combinación para optimizar la extracción de proteínas mediante el uso de un diseño compuesto central del enfoque de superficie de respuesta.

Utilizando un diseño totalmente aleatorio, el estudio se centró en cómo cada elemento influía individualmente en el resultado. Utilizando un enfoque factorial, se investigaron muchos niveles de cada elemento para comprender mejor su comportamiento antes de investigar sus interacciones, el método utilizado siguió la propuesta de (Mallea et al., 2023). Siguiendo los estándares aceptados para este estudio, se utilizó la técnica Micro-Kjeldahl AOAC960 para cuantificar el grado de descomposición de la proteína.

Determinación de pH de extracción (PEX). Para mejorar la solubilización de las proteínas, ya que estas se solubilizan mejor a un pH elevado. (Xu et al., 2023)

Se ajustó el pH de la solución a 3, 5, 7, 9 y 11. Esto se realizó utilizando ácido clorhídrico diluido e hidróxido de sodio, siguiendo las recomendaciones de. (Mazzocchi et al., 2025).

Se mantuvo constante la proporción de harina y líquido (1:12) y la temperatura (35°C) utilizando un baño maría, tal como lo indicaron. (Iida et al., 2024)

La mezcla se agitó continuamente durante 30 minutos, basándonos en los hallazgos de Chen et al. (2023) que demostraron un aumento constante del nitrógeno extraído durante este período. Después, la solución se centrifugó a 4000 rpm durante 20 minutos. La cantidad de nitrógeno disuelto se midió mediante el método micro-Kjeldahl, tomando muestras de 2 mL

del líquido superior (esto se repitió tres veces). Se elaboró un gráfico que relacionaba la cantidad de nitrógeno extraído (expresado como porcentaje de solubilidad) con el pH. El pH que resultó en la mayor disolución de proteínas se utilizó para optimizaciones posteriores. Es importante tener en cuenta que el uso de niveles de pH muy altos podría alterar la función de las proteínas e incluso dañar su estructura, impidiendo que recuperen su forma original. (Pérez et al., 2023)

- A. Determinación de relación harina de hígado solvente (AHS). Este estudio, se trabajó las muestras a un pH de 9 y a una temperatura de 35 °C durante 30 minutos. para determinar la mejor proporción, probamos diferentes mezclas de harina de hígado y agua desionizada: 1:8, 1:9, 1:10, 1:11 y 1:12. estas proporciones se eligieron basándose en las recomendaciones de investigaciones anteriores de. (Mera, 2018)
- B. Determinación de temperatura de extracción (TE). Para comprender cómo influye la temperatura en la extracción de proteínas, seguimos los métodos de Živković et al. (2019) probando temperaturas de 15, 20, 25, 30 y 35 °C. Mantuvimos un pH constante de 9 para la solución inicial y utilizamos una proporción harina/disolvente de 1:12, basándonos en pruebas anteriores. El proceso de extracción duró 30 minutos y, a continuación, todas las soluciones se centrifugaron a 4000 rpm durante 20 minutos. Para determinar la cantidad de nitrógeno disuelto, utilizamos el método micro-Kjeldahl, analizando tres muestras de 2 ml de la capa líquida superior. Expresamos los resultados cómo % de solubilidad. (Upadhyay y Sharanagat, 2025)

A continuación, se seleccionaron los dos niveles de temperatura que dieron lugar a la mayor solubilidad para un diseño factorial (2^k) como primer paso para optimizar el proceso de extracción de proteínas.

3.6.2.1 Fase 2. Escalamiento. El paso de screening examina detenidamente la forma de la curva para ver si es importante. Esta comprobación nos ayuda a saber si es necesario el

Escalado. El escalado consiste en avanzar cuidadosamente hacia la zona optima, como si subiéramos una colina, hasta que localizamos los niveles exactos alrededor de la cima.

3.6.2.2 Fase 3. Optimización de los parámetros de extracción. Para empezar a optimizar el proceso de extracción de proteína, se utilizó un diseño compuesto central rotable (DCCR) proporcionado por el software Desing expert 13 para evaluar los factores seleccionados en la etapa de screening. Este tipo de experimento, común para la mejora de procesos, comienza con un diseño factorial estándar de dos niveles. Luego, se añaden dos pruebas adicionales por cada factor. Estas pruebas extra, conocidas como puntos estrella, se colocan a una distancia igual por encima y por debajo del valor central, lo que permite medir la curvatura de cada factor. Al realizar estas pruebas, solo se modifica un factor a la vez, manteniendo los demás fijos en sus valores promedio. (Montgomery et al., 1996)

Ecuación general del modelo (DCCR) Para un experimento con k factores, la ecuación del modelo de segundo orden se puede expresar como:

Donde:

y= Respuesta

 β_{ii} = Coeficientes lineales

 β_{ij} = Coeficientes cuadráticos

 ε = Error aleatorio

Para optimizar el proceso, medimos la cantidad de proteína solubilizada utilizando el método Micro-Kjeldahl. Luego, para ver cómo se comparaba esta cantidad con la proteína total y determinar el porcentaje de proteína disuelta, aplicamos la siguiente fórmula:

3.6.3. Operaciones en la extracción de proteína de hígado de ovino

La extracción de proteínas se llevó a cabo siguiendo una metodología basada en el protocolo desarrollado por Joshi et al. (2011) aunque con ciertas modificaciones específicas para optimizar el rendimiento y la selectividad en este estudio particular. A continuación, se proporciona una descripción detallada del procedimiento, destacando las adaptaciones realizadas al método original.

3.6.4. Descripción del proceso de extracción de la proteína

3.6.4.1 Materia prima. Comprendió una cantidad significativa de 10 kilogramos de hígado de ovino fresco. Este hígado, específicamente, fue obtenido directamente del camal municipal de Yerbateros, ubicado en la ciudad de Lima.

3.6.4.2 Molienda. Primero, el hígado crudo fue cuidadosamente seleccionado y lavado para asegurar la máxima calidad e higiene luego, fue cortado en trozos más pequeños y alimentado de forma continua al interior del molino.

A medida que pasaba a través del equipo, el hígado fue triturado y molido con precisión, obteniendo una textura homogénea y una consistencia idónea para el siguiente paso del proceso.

3.6.4.3 Acondicionamiento. Para extraer las muestras de hígado de forma eficaz y obtener resultados fiables, primero las trituramos finamente hasta que quedan homogéneas y con mayor superficie. Después, añadimos la cantidad justa de agua destilada. Este paso es muy importante porque ayuda a que las sustancias que queremos analizar se disuelvan mejor y se mezclen bien con el líquido que usaremos para la extracción. Una vez hecho esto, ajustamos el pH de la mezcla añadiendo poco a poco hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N. Este ajuste es clave para que los compuestos que vamos a extraer se mantengan estables y se disuelvan bien. Añadimos el NaOH mientras removemos la mezcla constantemente y controlamos el pH con un medidor calibrado, para asegurarnos de que se distribuye uniformemente y no nos pasamos

del valor ideal. Para obtener los mejores resultados y extraer solo las sustancias deseadas, es crucial usar la cantidad correcta de NaOH. Esta cantidad ideal, determinada por pruebas, asegura que el solvente funcione de manera óptima y facilita que las sustancias importantes pasen del hígado al líquido de extracción.

3.6.4.4 Extracción alcalina. Se utilizó un procedimiento de extracción bajo un estricto control de temperatura y tiempo para la preparación de la materia prima. Se mantuvieron condiciones perfectas durante toda la operación utilizando un agitador electromagnético. La agitación homogénea y consistente de la mezcla, facilitada por el agitador electromagnético, garantiza la extracción efectiva de los componentes deseados.

La temperatura se cambió meticulosamente para optimizar el rendimiento del proceso y prevenir la deterioración o modificación de los componentes tomados al mismo tiempo. Centrifugación 1. Se utilizará un procedimiento de centrifugación para separar y purificar las proteínas de interés. Primero, un tubo de centrifugación contendrá el material, incluidos las proteínas. Luego se hará funcionar durante 15 minutos bajo una fuerza centrífuga de 2000 revoluciones por minuto (rpm). Las proteínas sólidas se separarán de su fuente líquida bajo esta fuerza centrífuga, aterrizando en el fondo del tubo.

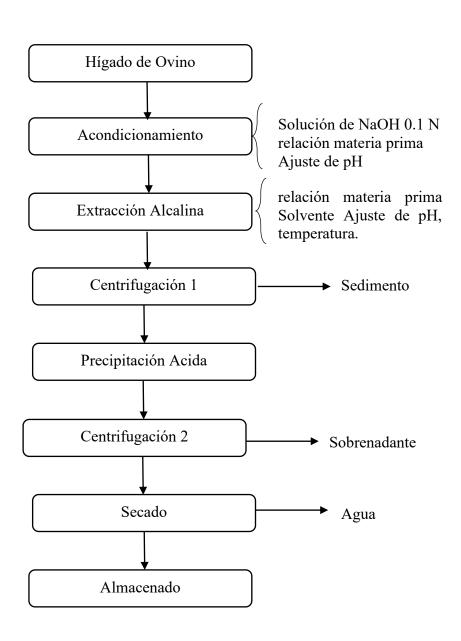
- **3.6.4.5 Precipitación**.Usando ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N, se realizará un cambio de pH a 4.5. Esta técnica añade HCl bajo supervisión hasta que se alcance el pH objetivo de 4.5.
- 3.6.4.6 Centrifugación 2. Se llevará a cabo una centrifugación rápida con el fin de separar y purificar las proteínas de interés. Al permitir que las proteínas se hundan y se concentren en un precipitado, esta técnica ayudará a separarlas de los otros elementos de la muestra. Durante quince minutos, la centrifugación se realizará a 2000 revoluciones por minuto (rpm). La cuidadosa selección de esta velocidad y periodo de centrifugación garantiza una adecuada sedimentación de las proteínas sin comprometer su estructura natural.
 - 3.6.4.7 Secado. Adquirido tras un procedimiento de separación y purificación, el

precipitado de proteínas se secará en un horno con control de temperatura. Esta etapa tiene como objetivo reducir significativamente el contenido de humedad del precipitado, obteniendo así un producto final más estable con una mayor concentración de proteínas.

3.6.4.8 Almacenado. Se almacenará el producto a una temperatura controlada de 4°C.
Esta temperatura óptima de refrigeración permitirá mantener las características y propiedades del producto de manera eficiente durante su almacenamiento.

Figura 3

Diagrama de flujo para la extracción alcalina de proteínas de hígado de ovino



3.6.5. Análisis de propiedades funcionales del aislado proteico de hígado de ovino

Una vez determinadas los parámetros óptimos para la extracción alcalina de la proteína de hígado de ovino, se separó cuidadosamente utilizando los ajustes optimizados y el método descrito en la figura 3. A continuación, esta proteína aislada se sometió a análisis minuciosos para determinar las propiedades funcionales de la proteína. Los procedimientos específicos utilizados para estos análisis se detallan a continuación.

3.6.5.1 Capacidad de absorción de agua. Se realizo mediante el método de centrifugación, adaptado de Mate (2021) que consistió en preparar una mezcla con un 10% de sólido en agua. Después, esta mezcla se centrifugó a 2500 rpm durante 15 minutos. Tras la centrifugación, se midió cuánta agua se había separado. La capacidad de retención de agua se calculó dividiendo el volumen de agua absorbida (en ml) por la cantidad de proteína (en gramos). Mediante la siguiente Ecuación siguiente.

% Absorcion de agua =
$$\frac{Peso\ del\ agua\ absorbida\ (g)}{Peso\ de\ muestra\ seca\ (g)} x 100....Ec.\ 8$$

3.6.5.2 Capacidad de Absorción de grasa. Se realizaron mediante el método empleado por Chen et al. (2019) que Cada extracto de proteína (0,05 g) se combinó con 10 g de aceite y se mezcló vigorosamente con un Vortex durante 2 minutos. Después de dejarlos reposar durante 30 minutos, las mezclas se centrifugaron (1800rpm, 25 °C, 15 minutos). El líquido de la parte superior se extrajo cuidadosamente y se pesó. Una fórmula permitió calcular la cantidad de aceite que se había absorbido.

% Absorcion de aciete =
$$\frac{Peso\ del\ aciete\ absorbida\ (g)}{Peso\ de\ muestra\ seca\ (g)}x100\ ...\ ...\ ...\ ...\ Ec.\ 9$$

3.6.5.3 Análisis de capacidad retención de agua (CRA). Se pesarán 0,5 g de aislado proteico y se colocaron en un tubo de centrífuga previamente pesado. Se agregarán 7,5 mL de solución amortiguadora de fosfato para ajustar el pH a un nivel similar al de la carne. La mezcla se agitará en un vórtex durante un minuto y luego se realizarán tres agitaciones manuales cada

10 minutos a temperatura ambiente.

A continuación, se someterá a centrifugación a 7000 revoluciones por minuto durante 15 minutos para separar el líquido superior, el cual se desechará. El material sólido restante se secará durante 25 minutos a 50°C. CRA se calcula mediante la ecuación siguiente

$$CRA = \frac{Wf - Wi}{Ws} \dots \dots Ec. 10$$

Donde:

Wf=peso seco final (g)

Wi=peso seco inicial (g)

Ws= peso de la proteína (g)

3.6.5.4 Análisis de capacidad de retención de aceite (CRO). Se peso 0,5 gramos de la muestra y se colocará en un tubo de centrifuga previamente pesado. Luego, se agregarán 3 mL de aceite de maíz. La mezcla se agitará en el vortex durante un minuto y se agitaran manualmente tres veces cada 10 minutos a temperatura ambiente, para que las proteínas mantengan el aceite. Después, se centrifugará a 5000 rpm durante 25 minutos para separar la fase sólida con el aceite Finalmente, el aceite no absorbido se transfirió a un recipiente graduado para medir su volumen y utilizarlo en la siguiente ecuación para obtener los resultados,

Donde:

Vf=volumen del aceite libre (ml)

Vi= volumen del aceite añadido (ml)

 ρ = Densidad(g/ml)

Wi= cantidad de proteína añadida(g)

3.7. Análisis de datos

Este estudio se llevó a cabo mediante un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial 2^k, que incluyó en repeticiones en puntos centrales. Esto se generó por el paquete estadístico Design Expert 13 en su versión de prueba. La primera etapa consistió en un diseño experimental de cribado (screening) y un diseño compuesto central de segundo orden, también generado por Design Expert 13 en su versión de prueba, que se utilizó para la optimización.

3.8. Consideraciones éticas

Instrumento básico en el ámbito científico, la investigación experimental proporciona un conocimiento profundo de acontecimientos difíciles y permite establecer correlaciones causales entre variables. Mantener un estricto planteamiento ético, junto con considerar elementos como el diseño del experimento, la recogida y el análisis de datos, son componentes muy vitales de una investigación experimental.

Además, el análisis crítico de los datos depende de la toma de conciencia de las limitaciones y los posibles prejuicios. Mediante una preparación meticulosa y prestando atención a las directrices metodológicas, los investigadores pueden obtener resultados sólidos y pertinentes que no sólo contribuyan al conocimiento académico, sino que también puedan utilizarse en otros ámbitos. En definitiva, una investigación ética y bien organizada puede mejorar la sociedad y hacer avanzar la ciencia.

IV. RESULTADOS

4.1. Análisis proximal del hígado de ovino

La tabla 2 muestra la composición básica del hígado fresco de ovino. Sin embargo, es importante recordar que estos valores pueden cambiar según la edad del animal, su salud y su alimentación.

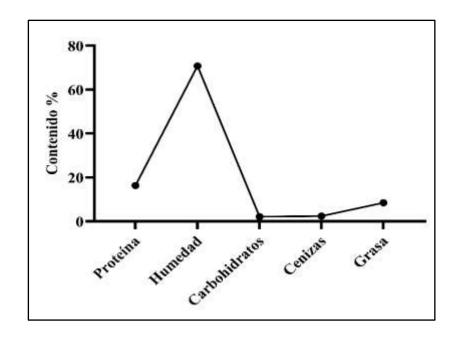
Tabla 2Resultado del análisis proximal del hígado fresco de ovino

Contenido porcentual %
16.33 ± 0.52
70.78 ± 0.22
2.12 ± 0.72
2.34 ± 0.73
8.43 ± 0.46

Nota. los resultados corresponden a la media más la desviación estándar de tres repeticiones

Figura 4

Grafica de análisis proximal del hígado de ovino frescoResultados de la optimización de la extracción alcalina



4.2. Resultados de la optimización de la extracción alcalina

4.2.1. Screening

4.2.1.1 Resultados de la solubilidad proteica en función al pH de extracción. En este caso, la temperatura, la proporción de harina de hígado y solvente, y el tiempo permanecieron constantes. El objetivo es analizar el efecto de un solo factor pH cómo influye en la solubilidad proteica.

Tabla 3Influencia del pH de extracción en la solubilidad proteica

 pH de extracción (PEX)	Solubilidad %	
3	39.5°±0.50	
5	$57.8^{d} \pm 0.26$	
7	$85.7^{b} \pm 0.79$	
9	$92.2^{a} \pm 0.53$	
11	$82.9^{c} \pm 0.26$	

Nota. Los valores mostrados en la tabla son media + desviación estándar de tres repeticiones las letras a, b, c, d, e son las diferencias significativas.

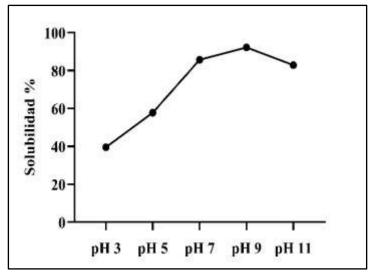
Tabla 4Análisis de la Varianza para pH de extracción (PEX)

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	5915.12	4	1478.78	5687.62	< 0.0001
Tratamiento	5915.12	4	1478.78	5687.62	< 0.0001
Error	2.60	10	0.26		
Total	5917.72	14			

Nota. en la tabla 4 se observa que existe una diferencia significativa entre los tratamientos a diferentes pHs p- valor menor a 0.05

Figura 5

Grafica de la Influencia del pH de extracción en la solubilidad proteica



Nota. La Figura 5 presenta una gráfica que ilustra la relación entre el pH y la solubilidad proteica. a una temperatura constante de 35°C y una relación mp/solvente de 1:12 Al analizar los datos representados, se puede apreciar una clara tendencia: a medida que el pH aumenta, también se incrementa la solubilidad de las proteínas. Esto sugiere que las proteínas tienden a ser más fácilmente disueltas en soluciones con pH más alto.

4.2.1.2 Resultados de solubilidad proteica en función harina: solvente (AHS). En este experimento, mantuvimos la temperatura, el tiempo y el pH 9 constantes. El propósito principal es examinar cómo la proporción de harina y solvente afecta la solubilidad de las proteínas, centrándonos en el efecto de este único factor.

 Tabla 5

 Influencia de harina: solvente en la solubilidad proteica

Relación harina: solvente (AHS).	Solubilidad %
1:8	$69.6^{e} \pm 0.17$
1:9	$72.4^{d} \pm 0.21$
1:10	$74.3^{\circ} \pm 0.10$
1:11	$76.8^{b} \pm 0.46$
1:12	$78.6^{a} \pm 0.23$

Nota. Los valores mostrados en la tabla son media +desviación estándar de tres repeticiones las letras a, b, c, d, e son las diferencias significativas

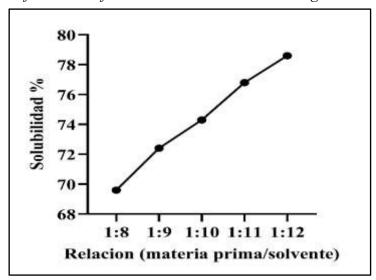
Tabla 6Análisis de la Varianza para harina: solvente en la solubilidad proteica

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	151.30	4	37.82	610.06	< 0.000
Tratamiento	151.30	4	37.82	610.06	< 0.000
Error	0.62	10	0.06		
Total	151.92	14			

Nota. en la tabla 4 se observa que existe una diferencia significativa entre los tratamientos a diferentes disoluciones p- valor menor a 0.05

Figura 6

Grafica de la Influencia de la relación harina: agua en extracción



Nota. En la figura 6 se observa que cantidad de materia prima que se agrega a la mezcla es muy importante, y depende de cuánta proteína tenga la harina y de qué tipo sea. En este estudio se consideró constante el pH de 9 y una temperatura de 35 °C.

4.2.1.3 Resultados de la solubilidad proteica en función temperatura (TE). En este experimento, mantuvimos, el tiempo relación harina: agua y el pH (11) constantes. El propósito principal es examinar cómo la Temperatura afecta la solubilidad de las proteínas, centrándonos en el efecto de este único factor.

 Tabla 7

 Influencia de la temperatura en la solubilidad proteica

Temperaturas de extracción °C	Solubilidad %
15	79.4° ±0.44
20	$81.6^{b} \pm 0.26$
25	$82.5^{b} \pm 0.53$
30	$86.2^a \pm 0.26$
35	$78.3^d \pm 0.10$

Nota. Los valores mostrados en la tabla 8 son media +desviación estándar de tres repeticiones las letras a, b, c, d, son las diferencias significativas

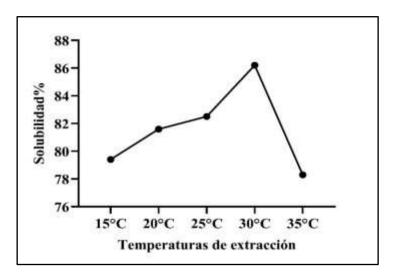
 Tabla 8

 Análisis de la Varianza para Temperatura en la solubilidad proteica

FV	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	113.10	4	28.28	228.02	< 0.0001
Tratamiento	113.10	4	28.28	228.02	< 0.0001
Error	1.24	10	0.12		
Total	114.34	14			

Nota. en la tabla 9 se observa que existe una diferencia significativa entre los tratamientos a diferentes disoluciones p- valor menor a 0.05

Figura 7
Grafica de la Influencia de la Temperatura en extracción



Nota. La figura 7 muestra que la solubilidad de las proteínas se ve influida por la temperatura. Su disolución es más fácil a partir de 25 °C. Sin embargo, dependiendo de su tipo y composición, las proteínas pueden perder sus propiedades y la capacidad de recuperación si el calor aumenta por encima de los 50 °C.

Los resultados mencionados muestran con gran detalle el efecto único de cada elemento PEX, AHS y TE considerado sobre la solubilidad de la proteína examinada. Este efecto se descubrió mediante una investigación exhaustiva en la que se utilizó un plan experimental totalmente aleatorizado. La Tabla 9 ofrece un estudio exhaustivo de cada componente, incluidas sus principales interacciones, en el marco de un diseño factorial 2k, donde k denota el número de factores PEX, AHS y TE, ofreciendo así un conocimiento más profundo y extenso. Como complemento de un modelo de predicción, esta tabla 9 muestra representaciones gráficas de la influencia de cada elemento y de sus interacciones. Este modelo pretende permitir la elección de los ajustes experimentales ideales que maximicen la solubilidad de la proteína, permitiendo así una toma de decisiones informada y eficaz para la investigación.

Tabla 9Análisis de Varianza del Screening

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	8	52.2911	6.5364	152.01	0.000
Lineal	3	19.2737	6.4246	149.41	0.000
AHS	1	0.2113	0.2113	4.91	0.091
TE	1	1.3612	1.3612	31.66	0.005
PEX	1	17.7012	17.7012	411.66	0.000
Interacciones de 2 términos	3	0.7038	0.2346	5.46	0.067
AHS*TE	1	0.6613	0.6613	15.38	0.017
AHS*PEX	1	0.0313	0.0313	0.73	0.442
TE*PEX	1	0.0112	0.0112	0.26	0.636
Interacciones de 3 términos	1	0.3612	0.3612	8.40	0.044
AHS*TE*PEX	1	0.3612	0.3612	8.40	0.044
Curvatura	1	31.9523	31.9523	743.08	0.000
Error	4	0.1720	0.0430		
Total	12	52.4631			

4.2.2. Escalamiento

Se utilizó una tabla de análisis de varianza (ANOVA) 9 en la primera etapa de CRIBADO para evaluar el efecto de muchas variables en la solubilidad de las proteínas. Este ANOVA expuso un efecto de curvatura estadísticamente significativo, demostrando así un vínculo no lineal entre las variables y la variable de respuesta (solubilidad de la proteína). Además, el modelo de primer orden utilizado inicialmente para los datos experimentales resultó ser suficientemente adecuado para explicar los patrones observados en el espacio de diseño de SCREENING. Una investigación más exhaustiva dentro del propio paso de SCREENING se consideró innecesaria dada la gran curvatura y el ajuste razonable del modelo de primer orden. Habiendo logrado esto de manera efectiva, el objetivo principal de la etapa de SCREENING era encontrar áreas que mostraran potencial para una mayor optimización.

En concreto, el análisis permitió señalar los intervalos de cada factor en los que se observó una mayor solubilidad de la proteína. Basándose en el análisis realizado en esta fase inicial, las regiones consideradas próximas al óptimo (incluidos los puntos óptimos potenciales y las zonas circundantes) se identificaron como sigue: un intervalo de pH de 8 a 11, un intervalo de temperatura de 25 a 35°C, y una relación harina/disolvente que oscilaba entre 1:10 y 1:12. Es importante señalar que estos rangos, aunque proporcionan un valioso punto de partida, se consideraron en última instancia preliminares. Por lo tanto, estos rangos identificados fueron posteriormente refinados, ajustados y sometidos a un riguroso proceso de optimización en la siguiente etapa, más detallada, del diseño experimental global. La siguiente etapa tenía como objetivo determinar con precisión los niveles óptimos de cada factor dentro de estos rangos reducidos para maximizar la solubilidad de la proteína.

4.2.3. Optimización de los parámetros de extracción

Los estudios o experimentos realizados anteriormente muestran que cada factor de extracción influí a la solubilidad de proteínas de manera distinta. Pero el efecto de las interacciones de los factores, influyen significativamente en la cantidad de proteína que se obtiene. Observamos los 3 factores más importantes que encontramos en la etapa del SCREENING y utilizamos 2 niveles diferentes para cada factor.

Tabla 10Variables y niveles codificados para la optimización

		Nive	eles
Variables Independientes	Codificación	-1	1
Temperatura (°C) (TE)	X1	25	35
Relación MP/S(ml) (AHS)	X3	1:10	1:12
рН (РЕХ)	X4	8	11

Para lograr la optimización, se realizó mediante un diseñó central compuesto rotable que arrojo de 16 pruebas experimentales. Este diseño incluyó 8 pruebas experimentales, 6

puntos axiales y 2 puntos centrales. Las variables modificadas en el experimento se convirtieron a sus valores reales utilizando la fórmula descrita en la sección de metodología. El plan experimental detallado para llevar a cabo esta optimización se presenta en la siguiente tabla 11.

 Tabla 11

 Diseño experimental compuesto central rotable

		Respuesta		
Tratamientos	PEX (pH)	TE (°C)	AHS (mp/disolvente)	% Proteína
1	8	25	10	85.76 ± 0.023
2	11	25	10	87.95 ± 0.27
3	8	35	10	87.18 ± 0.32
4	11	35	10	86.45 ± 0.06
5	8	25	12	89.53 ± 0.18
6	11	25	12	88.34 ± 0.12
7	8	35	12	89.21 ± 0.15
8	11	35	12	88.93 ± 0.45
9	6.98	30	11	83.83 ± 0.38
10	12.02	30	11	83.06 ± 0.91
11	9.5	21.6	11	82.15 ± 0.46
12	9.5	38.4	11	95.48 ± 0.52
13	9.5	30	9.3	81.18 ± 0.07
14	9.5	30	12.7	82.82 ± 0.56
15	9.5	30	11	93.61 ±0.45
16	9.5	30	11	96.75 ± 0.03

Nota. En la tabla 11 se muestra el resultado del porcentaje de rendimiento más la desviación estándar de 3 repeticiones donde PEX = pH de extracción, AHS= Relación mp/ disolvente, TE= Temperatura de extracción.

 Tabla 12

 Elección del modelo matemático para el rendimiento de proteína extraída

Fuente	Secuencial p-	Falta de ajuste	Ajustado	Predicido	
1 uchte	value	p-value	\mathbb{R}^2	R ²	
Lineal	0.5808	0.3360	-0.0683	-0.3377	
2FI	0.9967	0.2875	-0.4162	-0.8208	
Cuadrático	0.1034	0.3586	0.1869	-1.4195	Sugerido
Cubico	0.7317	0.2016	-0.1758	-30.3906	Dirección

Ecuación final en términos de factores codificados

% Proteina = 94.81 - 0.0956 * A+1.66*B+0.8368*C-0.2513*AB-

0.3663*AC+0.0437*BC.

La ecuación en términos de factores codificados puede utilizarse para hacer predicciones sobre la respuesta para niveles dados de cada factor. Por defecto, los niveles altos de los factores se codifican como +1 y los niveles bajos como -1. La ecuación codificada es útil para identificar el impacto relativo de los factores comparando los coeficientes factoriales.

Figura 8

Grafica De Superficie Respuesta de pH de extracción y temperatura de extracción

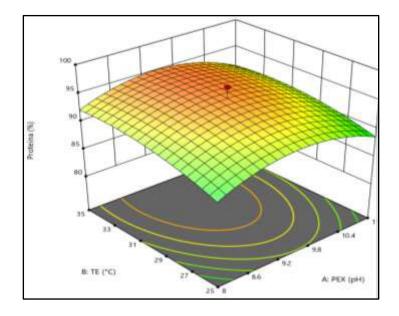


Figura 9Grafica de contornos para PEX vs TE

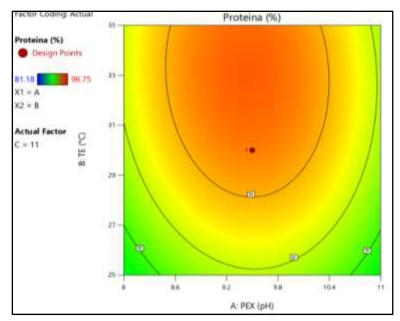


Figura 10Grafica De Superficie Respuesta de pH de extracción y relaón mp/solvente

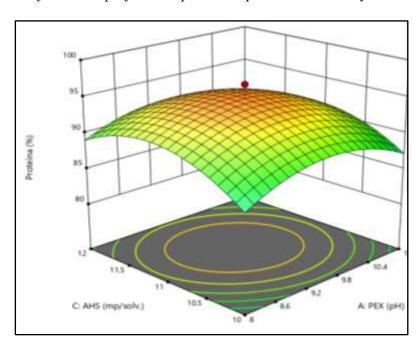


Figura 11

Grafica de contornos para PEX vs AHS

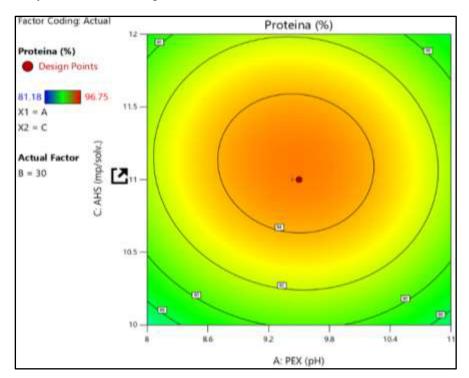


Figura 12

Grafica De Superficie Respuesta de TE y relación mp/solvente

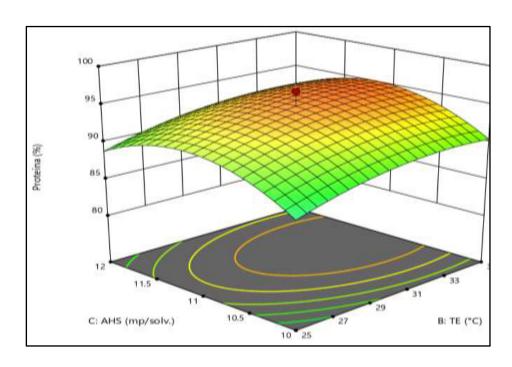
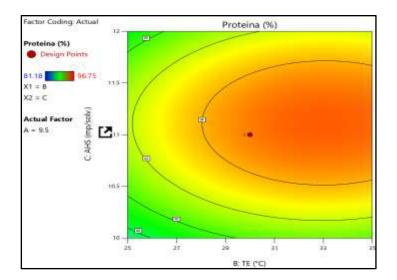


Figura 13

Grafica de contornos para TE vs AHS



Las gráficas muestran que se pueden hacer mejores ajustes para la extracción alcalina de la proteína de hígado de ovino. Cada caso tiene un rango perfecto para los factores que se observan en las gráficas 8,10, 12. Para PEX, este rango optimizado está entre 8 y 9.5, y para AHS, entre 11y 12 (o sea, 1:11 y 1:12). La temperatura ideal para la extracción (TE) está entre 30 y 35 °C. Estos valores son los mejores para cada factor.

4.2.4. Análisis proximal de proteína aislada de hígado de ovino

Se creó un aislado de proteico utilizando los valores de factores optimizados ajustes encontrados en pruebas anteriores: un pH de 9,5, una proporción mp/agua de 1:11 y una temperatura de 35°C. Para ello, se realizó una extracción alcalina, seguida de un aislamiento de proteínas mediante precipitación isoeléctrica a un pH de 4,5, ajustado utilizando HCl 0,1N y NaOH 0,1N. El aislado proteico de hígado de ovino se sometió a un análisis proximal para determinar la cantidad de proteína recuperada y la eficacia del proceso. Los resultados se muestran en la tabla 13.

Tabla 13Resultado del análisis proximal de proteína aislado de hígado de ovino

Componentes	Contenido porcentual %
Proteína	75.9 ± 0.32
Humedad	5.42 ± 0.12
Carbohidratos	3.42 ± 0.52
Cenizas	6.04 ± 0.43
Grasa	9.2 ± 0.36

Nota. los resultados corresponden a la media más la desviación estándar de tres repeticiones

El estudio revela un hallazgo significativo: el producto analizado presenta un alto contenido proteico. Este resultado es un indicador directo del éxito en la metodología empleada para la extracción de las proteínas. Específicamente, la optimización precisa de los parámetros y ajustes durante el proceso de extracción ha demostrado ser fundamental para incrementar la cantidad de proteína recuperada. La efectividad de este incremento sugiere que la estrategia implementada superó las limitaciones inherentes a la materia prima, en este caso, del hígado de ovino.

4.2.5. Análisis de propiedades funcionales del aislado proteico de hígado de ovino

La proteína aislada obtenida en este proceso presenta características únicas y distintivas que la diferencian notablemente de otros tipos de aislados proteicos disponibles. Esta singularidad no es accidental, sino que deriva directamente de dos factores clave: la utilización de materia hígado de ovina inicial específico y la aplicación de un método de extracción basado en el uso de alcalino.

Tabla 14Propiedades funcionales del aislado proteico de hígado de ovino

Propiedades funcionales	Aislado proteico de hígado		
de la proteína	de ovino		
Capacidad de absorción de agua	0.96 g agua/g proteína		
Capacidad de Absorción de grasa	1.53 g agua/g proteína		
Capacidad de retención de aceite (CRO)	2.72 g aceite/g proteína		
Capacidad retención de agua (CRA)	3.25 g agua/g proteína		

Los resultados obtenidos, como se muestra en la Tabla 14, indican la capacidad básica de las proteínas del hígado de oveja para interactuar con el agua y la grasa, lo que determina sus características funcionales. Capacidad de absorción de agua 0.96 g de proteína/g de agua. Esto es crucial en los usos alimentarios, ya que la textura y la jugosidad de los alimentos pueden verse afectadas por una excelente capacidad de absorción de agua. Capacidad de absorción de grasa: 1.53 g de grasa/g de proteína. Productos como emulsiones y salsas dependen de la interacción con grasas para mantener la estabilidad y la textura, por lo que la alta capacidad de absorción de grasa es crucial.

2,72 g de aceite/g de proteína Capacidad de retención de aceite (CRO). Los procedimientos de cocción y preparación de alimentos dependen de su calidad, ya que afecta al sabor y a la sensación en boca, así como a la estabilidad del resultado final.

Capacidad de retención de agua (CRA) 3,25 g proteína/g agua. El mantenimiento de la humedad en los alimentos depende de una elevada capacidad de retención de agua, lo que aumenta su vida útil y su calidad.

4.2.6. Rendimiento

Mediante una técnica de extracción alcalina, el estudio demostró una notable concentración de proteínas hepáticas extraídas, que representaron el 13.4% del peso total del hígado ovino. Esta proporción muestra una notable concentración de proteínas en el tejido

hepático, lo que indica que las proteínas son absolutamente importantes para la construcción y

el funcionamiento del hígado. Probablemente seleccionada por su solubilidad en ciertas

proteínas, el método de extracción alcalina permitió medir el contenido exacto de proteínas en

la muestra de hígado examinada.

4.2.7. Contrastación de la hipótesis

Ho. La eficiencia de la extracción de proteínas de hígado de ovino depende de la relación

materia prima/solvente, pH y temperatura, no tiene influencia significativa de al menos una de

estas variables.

Ha. La eficiencia de la extracción de proteínas de hígado de ovino depende de la relación

materia prima/solvente, pH y temperatura, tiene influencia significativa de al menos una de

estas variables

En las Tabla 4, Tabla 6, Tabla 8, se observa los resultados del ANOVA donde P

<0.0001. Entonces se acepta la Ha y rechazamos la Ho, evidenciando La eficiencia de la

extracción de proteínas de hígado de ovino depende de la relación materia prima/solvente, pH

y temperatura,

Interpretación

Si P > 0.05 Se rechaza la Ha y se acepta la Ho

Si P < 0.05 Se rechaza la Ho y se acepta la Ha

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los hallazgos muestran que el hígado de oveja tiene un alto nivel de humedad del 70.78% y un contenido de proteína del 16.33%. Esto es consistente con los hallazgos de investigaciones relacionadas, incluyendo a Xiong et al. (2016) donde el hígado de pollo también mostró un espectro notable en términos de contenido de proteínas y humedad. No obstante, el nivel de grasa en el hígado de oveja (8.43%) es importante para su posible uso en el sector alimentario, ya que un alto contenido de grasa podría afectar la textura y el sabor de los productos terminados.

El presente trabajo se centró en la mejora de la extracción alcalina, un paso fundamental para la recuperación de proteínas de interés. Mediante pruebas y análisis exhaustivos, se hallaron los valores ideales para este método: un pH de 9,5, una temperatura de 35 °C y una relación materia prima/disolvente de 1:12. Dado que los cambios en cualquiera de estos factores pueden influir enormemente en el rendimiento y la calidad de la proteína obtenida, la precisión en el establecimiento de estos valores es muy básica. Una comparación con la investigación de Xiong et al. (2016) ayudó a comprender los resultados de la presente investigación. Según los estudios anteriores, el mejor rendimiento proteínico se encontró en un intervalo de pH algo amplio, entre 2,0 y 12,0. Esta diferencia en el pH ideal subraya la necesidad de abordar ciertos elementos contextuales.

La fluctuación en el pH ideal implica fuertemente que el tipo de tejido utilizado como materia prima y la técnica de extracción empleada están fundamentalmente relacionados con este valor. Las composiciones químicas únicas de los distintos tejidos pueden afectar a la solubilidad de las proteínas a distintos niveles de pH. Del mismo modo, los cambios en la técnica de extracción -es decir, la duración de la extracción, la agitación o el tipo de disolvente-pueden afectar a la capacidad de respuesta de las proteínas al pH. Con un pH ideal de 9,5, la gran eficacia mostrada en circunstancias alcalinas en el presente trabajo no sólo confirma el

enfoque utilizado, sino que también subraya la necesidad crucial de ajustar los parámetros de extracción. Maximizar el rendimiento de la proteína pretendida depende de la capacidad de modificar estos parámetros en función de las propiedades particulares del tejido y de la técnica; por lo tanto, alcanzar resultados repetibles y consistentes en próximas investigaciones y usos depende también de esta capacidad. Por último, dados los factores discutidos, la modificación de la extracción alcalina parece ser una estrategia necesaria para la extracción eficaz de proteínas. Con una concentración de proteínas del 75,9%, el aislado de proteínas producido por nuestro método mostró niveles bastante elevados. Esta proporción es mucho mayor que el nivel normal de proteínas en el hígado crudo.

La significativa variación subraya la posibilidad de que la metamorfosis concentre las proteínas en el hígado.

Cuando se contrasta con investigaciones anteriores, incluida la de Paula et al. (2023) en la que se obtuvieron rendimientos de extracción de proteínas de hígado de cerdo de hasta el 68,04%, este resultado es muy pertinente. Si bien nuestro aislamiento supera en algo el rendimiento señalado por Paula et al., ambos hallazgos indican en la misma dirección: existe una tendencia favorable y alentadora en la evolución de los métodos de procesamiento del hígado especialmente destinados a elevar su contenido proteico. Estos hallazgos implican que el desarrollo de productos de hígado nutricionalmente más densos y útiles puede derivarse de la optimización de los procesos de extracción mediante la manipulación variada de la temperatura, el pH, la duración de la extracción y el uso de determinadas enzimas. Los métodos de filtrado más sofisticados, la eliminación selectiva de elementos no proteicos y la consiguiente concentración de la proteína eliminada podrían formar parte de esta optimización. El objetivo final es optimizar la recuperación de proteínas del hígado manteniendo su calidad nutricional y funcional, abriendo así el camino al desarrollo de componentes alimentarios ricos en proteínas y quizá de suplementos dietéticos.

Este estudio subraya la necesidad de seguir explorando y mejorando las técnicas de extracción de proteínas a partir de subproductos animales, incluido el hígado, para contribuir a la seguridad alimentaria y al mejor uso de los recursos. Crucialmente para usos en el sector alimentario, donde tales características podrían afectar a la textura y palatabilidad de los productos, los parámetros funcionales específicos del aislado demuestran una capacidad de absorción de agua y aceite.

Paula et al. (2023) también investigaron este elemento; se observó que la adición de sal aumentaba en gran medida la solubilidad de las proteínas. Estos hallazgos podrían implicar que se podrían utilizar aditivos para aumentar la formulación de los alimentos derivados del hígado de oveja, mejorando así el funcionamiento del aislado.

En comparación con investigaciones anteriores, como la de Chirinos et al. (2024) en la que la optimización mediante ondas ultrasónicas permitió obtener un contenido proteínico de hasta el 72% y un mayor rendimiento, lograr un rendimiento de extracción alcalina del 13,4% es muy bajo. Esto implica que métodos más sofisticados podrían aumentar la producción y la calidad del aislado proteico de hígado de oveja, aunque el procesamiento convencional pudiera ser útil. Según los estudios, existe una buena forma de maximizar la extracción de proteínas del hígado de oveja. Los hallazgos implican que se puede conseguir un alto contenido proteínico modificando cuidadosamente las condiciones de extracción, por lo que quizá ayude al sector alimentario.

No obstante, es crucial tener en cuenta que el rendimiento más bien bajo presenta una dificultad y crea oportunidades para futuros estudios que investiguen otros enfoques más eficientes, como los procedimientos asistidos por ultrasonidos o el uso de variantes en las formulaciones de los extractores. No sólo debemos seguir explorando este importante campo para maximizar el rendimiento del proceso de extracción y aumentar así la eficacia y la rentabilidad, sino también para elevar en gran medida la calidad funcional del aislado proteico

producido. Esta mejora de la calidad funcional tiene que incluir la solubilidad, la digestibilidad, la capacidad de retención de agua y la estabilidad térmica, cualidades que afectan directamente al uso del aislado en diferentes formulaciones alimentarias. Con la vista puesta en el sabor, la textura y el aspecto para garantizar una amplia aceptación y consumo, el objetivo final es crear alimentos extremadamente nutritivos con perfiles de aminoácidos completos y biodisponibles que atraigan intuitivamente al consumidor contemporáneo. Investigar tecnologías de extracción novedosas, técnicas de purificación creativas y tratamientos posteriores a la extracción que mantengan y mejoren las cualidades funcionales de la proteína deben ser las principales prioridades del estudio, permitiendo así una variedad de opciones para el desarrollo de comidas sanas y deseadas

VI. CONCLUSIONES

- Se determino el contenido proximal del del hígado de ovino reveló una composición Proteína 16.33%, Humedad 70.78%, Carbohidratos 2.12%, Cenizas 2,34%, Grasa 8.43%.
- Se determinó los parámetros óptimos de pH =9.5 Temperatura 35 y Relación materia prima/solvente 1:12 en la extracción alcalina del aislado proteico de hígado de ovino.
- Se determino el contenido proximal del aislado proteico del hígado de ovino reveló una composición Proteína 75.9%, Humedad 5.42 %, Carbohidratos 3.42 %, Cenizas 6.04 %, Grasa 9.2 %.
- Se determino las propiedades funciónales del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados revelo una capacidad de absorción de agua. 0.96 g agua/g proteína, 1.53 g agua/g proteína, CRO2.72 g aceite/g proteína y CRA3.25 g agua/g proteína.
- Se determino el rendimiento de la extracción alcalina en función al peso total del hígado de ovino como proteína que revelo 13.4%.

VII. RECOMENDACIONES

- Implementar técnicas avanzadas de purificación como la cromatografía de afinidad, cromatografía en columna y filtración por membranas para aumentar la pureza de las proteínas y eliminar contaminantes no deseados.
- Evaluar métodos de separación que no solo consideren la solubilidad, sino también la estabilidad y funcionalidad de las proteínas a diferentes pH y temperaturas.
- Investigar la modificación química o enzimática de las proteínas aisladas para mejorar sus propiedades funcionales, como la solubilidad, emulsificación, gelificación y espumado.
- Examinar condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad) que preserven la estabilidad de las proteínas a largo plazo.
- Explorar nuevas aplicaciones de las proteínas aisladas en la industria alimentaria,
 como en la elaboración de productos cárnicos, suplementos nutricionales, o
 ingredientes funcionales.

VIII. REFERENCIAS

- Amor, M. (2022). *Influencia de la germinación en la obtención de aislados proteicos de altramuz* [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica de València]. Repositorio institucional UPV. https://riunet.upv.es/handle/10251/186564
- Arcos , M. B. (2024). Determinación de las propiedades físico-químicas del suelo, mediante el uso de técnicas básicas del laboratorio de suelos, del lote seis en la Universidad Técnica de Cotopaxi, campus Salache, provincia de Cotopaxi 2023 [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional UTC. https://repositorio.utc.edu.ec/items/b4ea84b1-8bd6-4938-8777-520ad947c94a
- Arzapalo, D., Huamán, K., Quispe, M. y Espinoza, C. (2015). Extracción y caracterización del almidón de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) negra collana, pasankalla roja y blanca Junín. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81(1), 44-54. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000100006
- Benites, G. R. (2024). Expressão, purificação e caracterização das luciferases de Cratomorphus distinctus (Lampyridae) e Euryopa clarindae (Phengodidae) e sondagem de suas aplicabilidades [Tesis de posgrado, Universidade Federal de São Carlos]. Repositorio institucional UFSCar.

 https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/20462
- Carpio, J. y Lozano, R. I. (2023). Evaluación de la Influencia del pH en la obtención de aislado proteico de alpiste (Phalaris canariensis) [Tesis de posgrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Repositorio institucional UNPRG.

 http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/12344
- Chen, C., Hou, S., Wu, C., Cao, Y., Tong, X. y Chen, Y. (2023). Improving protein utilization and fermentation quality of soy sauce by adding protease. *Journal of Food Composition*

- and Analysis, 121, 105399. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105399
- Chen, G., Wang, S., Feng, B., Jiang, B. y Miao, M. (2019). Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure. *Food Chemistry*, 277, 632-638. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.024
- Chirinos, R., Scharff, R., Rodriguez-Diaz, J., Figueroa-Merma, A., Aguilar-Galvez, A., Guzmán, F., Contardo, I., Pedreschi, R., y Campos, D. (2024). Extracciones convencionales y asistidas por ultrasonido de proteína de sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) y su impacto en las características fisicoquímicas y estructurales. *Applied Food Research*, 4(2), 100545. https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100545
- Chuchuca, D. A. (2023). Evaluación nutricional de la harina de diferentes mezclas de pulmón e hígado de alpaca. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
 Repositorio institucional ESPOCH.
 http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/21157
- Ferrer, C., Zumalacárregui, B. y Mazorra, M. (2020). Caracterización físico-química del aceite de semillas de moringa oleífera. *Revista Centro Azúcar*, 47 (4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2223-48612020000400001&script=sci_arttext.
- Gálvez, J. (2023). Compostaje como aprovechamiento de residuos del olivar. Caracterización analítica del compost durante el proceso de maduración. [Tesis de pregrado, Universidad de Jaén]. Repositorio institucional UJAEN. https://crea.ujaen.es/handle/10953.1/20397
- Iida, M., Tsuda, S., Kikuchi, M., Samoto, M., Adachi, N. y Nakamura, A. (2024). Extraction of water-soluble polysaccharides from lupin beans and their function of protein dispersion and stabilization under acidic conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278, 134664. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134664
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F. y Kasapis, S. (2011). Physicochemical and

- functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods. *Food Chemistry*, 129(4), 1513-1522. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.131
- Khaled, O., Ryad, L. y Gad, N. (2024). Quick and high-throughput quantification of β-agonist residues in bovine liver, meat, milk, kidney, poultry, and egg using dispersive solid phase extraction. *Journal of Chromatography B*, 1242, 124207. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124207
- León Pérez, S. (2018). Construcción de un modelo de superficies de respuesta para la estandarización y validación de un método analítico en la empresa COLCOCOA. [Tesis de pregrado, Universidad de Pamplona Colombia]. Repositorio institucional UNIPAMPLONA.

http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co:8080/bitstream/20.500.12744/5026/1/Le %C3%B3n 2017 TG.pdf

- Mallea, A. E., López, R., Tiedemann, M. C., Ávila, A. y Bierbrauer, K. (2023). Optimizacion del proceso de obtencion de quitina a partir de desechos de la industria pesquera [conferencia]. XXIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. https://conferencias.unpa.edu.ar/index.php/cafqi/article/view/51
- Mate, M. (2021). Impacto del tratamiento hidrotérmico asistido con microondas sobre las propiedades funcionales y las fracciones proteicas de la harina de tef. [Tesis de pregrado, Universidad de Valladolid]. Repositorio institucional UVa. https://uvadoc.uva.es/handle/10324/48237
- Mazzocchi, C., Møller, A. H., Benucci, I., Esti, M., y Dalsgaard, T. K. (2025). Enhancing the water solubility and stability of zinc modulated chlorophyll by alginate-whey protein isolate complexes at different pH values. *Food Hydrocolloids*, 163, 111115. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111115
- Mera, L. (2018). Optimización de la extracción de proteína de Cañihua (Chenopodium

- pallidicaule Aellen) utilizando la metodología de superficie de respuesta [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional UNALM. http://45.231.83.156/handle/20.500.12996/3710
- Mirambell, M. (2020). Determinación de las propiedades físico-químicas y funcionales y de las interacciones con diferentes tipos de almidón de un polvo obtenido a partir de cardo [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Valencia]. Repositorio institucional UPV. https://riunet.upv.es/handle/10251/157876
- Molina, M. C., Varela, N., Jaramillo, F., Valencia, A., Gómez, S. y Agudelo, M. A. (2024).

 Caracterización fisicoquímica, nutricional y sensorial de dos complementos alimenticios biofortificados. *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 74 (1). https://doi.org/10.37527/2024.74.1.002.
- Montgomery, D. C., Runger, G. C. y Medal, E. G. U. (1996). *Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería* (Vol. 1). McGraw-Hill.
- Omote, J. R. (2019). Optimización de la Extracción y Caracterización de las Proteínas solubles del Concentrado de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) [Tesis de posgrado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional UNALAM. https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/4163
- Paula, M. M. de O., Buchili, A. F. M., Fontes, P. R., Ramos, A. de L. S. y Ramos, E. M. (2023). Extraction of proteins from aqueous and salt solutions of porcine edible byproducts using the pH-shifting technique. *Food Chemistry Advances*, 3, 100486. https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100486
- Peñuelas, Á. (2024). Análisis transcriptómico del hígado de dos lineas de conejo divergentes seleccionadas por el contenido de grasa intramuscular [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Valencia]. Repositorio institucional UPV. https://riunet.upv.es/handle/10251/207516

- Perez, C., de Pril, I., van de Voorde, I. y Fraeye, I. (2023). Fatty Acid and Amino Acid Profiles of Seven Edible Insects: Focus on Lipid Class Composition and Protein Conversion Factors. *Foods*, *12*(22), Article 22. https://doi.org/10.3390/foods12224090
- Quintero, J. y Zapata, J. E. (2017). Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. *Información tecnológica*, 28(1), 109-120. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100011
- Ramos, A. R. (2020). Extracción de aceite de semillas de guanábana (Annona muricata):

 Análisis proximal y propiedades funcionales de los aislados proteicos [Tesis de pregrado, Universidad de Cordova Monteria-Colombia]. Repositorio institucional UNICORDOBA. https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/3492
- Rosin, G. F. (2022). Proteínas recombinantes: Produção da enzima transcritase reversa do vírus murino da leucemia de moloney (M-MLV-RT) e avaliação do efeito antimicrobiano da subunidade beta da urease de proteus mirabilis [Tesis de posgrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul]. LUME Repositório Digital UFRGS. https://lume.ufrgs.br/handle/10183/240082
- Silva, M. F. A. da. (2022). Caracterização inicial dos extratos de Tephrosia toxicaria (Sw.)

 Pers. Quanto a atividade leishmanicida e toxicidade [Tesis, Pregrado Universidad

 Federal de Rio Grande de Norte]. Repositorio institucional.

 https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/47486
- Song, Z., Ni, W., Li, B., Ma, Y., Han, L. y Yu, Q. (2024). Sustainable ferritin from bovine by-product liver as a potential resource: Ultrasound assisted extraction and physicochemical, structural, functional, and stable analysis. *International Journal of Biological Macromolecules, 281,* 136264.

 https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136264

- Upadhyay, S. y Sharanagat, V. S. (2025). Plant protein-based Pickering emulsion for the encapsulation and delivery of fat-soluble vitamins: A systematic review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 306, 141635. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.141635
- Xiong, G., Gao, X., Wang, P., Xu, X. y Zhou, G. (2016). Comparative study of extraction efficiency and composition of protein recovered from chicken liver by acid–alkaline treatment. *Process Biochemistry*, 51(10), 1629-1635. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.007
- Xu, H., Pan, J., Dabbour, M., Kumah, B., Chen, W., Yang, F., Zhang, Z., Cheng, Y., Dai, C., He, R. y Ma, H. (2023). Synergistic effects of pH shift and heat treatment on solubility, physicochemical and structural properties, and lysinoalanine formation in silkworm pupa protein isolates. Food Research International, 165, 112554. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112554
- Živković, J., Janković, T., Menković, N. y Šavikin, K. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of isogentisin, gentiopicroside and total polyphenols from gentian root using response-surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 139, 111567. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111567
- Zou, Y., Wang, L., Li, P., Cai, P., Zhang, M., Sun, Z., Sun, C., Geng, Z., Xu, W., Xu, X. y Wang, D. (2017). Effects of ultrasound assisted extraction on the physiochemical, structural and functional characteristics of duck liver protein isolate. *Process Biochemistry*, 52, 174-182. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.09.027

IX. ANEXOS

Anexo A

Operacionalización de variables

Tipo de Variable	Variable	Dimensiones	Indicador	
V. Independiente	Factores de T°, pH, materia prima/solvente en la extracción de proteína de hígado de Ovino	Factores de extracción de proteína	Temperatura de extracción pH de la extracción Materia prima/solvente	
V. Dependiente	Rendimiento y calidad de la proteína de hígado de Ovino	Propiedades tecno funcionales	Capacidad de retención de agua Capacidad de retención de aceite Actividad emulsionante	
		% de rendimiento	Peso de la proteína Extraída	

Anexo B

Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Problema General:	Objetivo General:	Hipótesis General:	V. Independiente	
¿Cuáles son los parámetros óptimos, determinados mediante la metodología de superficie de respuesta, que permiten maximizar el rendimiento y la calidad de las proteínas extraídas del hígado de ovino?	Optimizar el proceso de extracción de proteínas del hígado de ovino mediante la metodología de superficie de respuesta para maximizar el rendimiento y la calidad de las proteínas obtenidas.	La eficiencia de la extracción de proteínas de hígado de ovino depende de la relación materia prima/solvente, pH y temperatura, tiene influencia significativa de al menos una de estas variables.	Factores de T°, pH, materia prima/solvente en la extracción de proteína de hígado de Ovino	
Problemas Específicos	Objetivos Específicos		V. Dependiente:	
 ¿Cuál es la composición proximal del hígado de ovino? ¿Cuáles son los parámetros óptimos de pH, temperatura y relación materia prima/solvente en la extracción alcalina del aislado proteico de hígado de ovino? ¿Cuál es la composición proximal del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados? ¿Cuáles son las propiedades funciónales del aislado proteico del higado de ovino extraído con los parámetros optimizados? Cuál es el rendimiento de la extracción alcalina en función al peso total del hígado de ovino como proteína. 	 Determinar el análisis proximal del hígado de ovino Determinar los parámetros óptimos de pH, temperatura y relación materia prima/solvente en la extracción alcalina del aislado proteico de hígado de ovino Determinar el análisis proximal del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados. Determinar las propiedades funciónales del aislado proteico del hígado de ovino extraído con los parámetros optimizados. Determinar el rendimiento de la extracción alcalina en función al peso total del hígado de ovino como proteína. 		Rendimiento y calidad de la proteína de hígado de Ovino	Tipo de Investigación: Aplicada Nivel: cuantitativo. Diseño de la Investigación: Experimental.