

## Desarrollo de Películas Comestibles a partir de Proteínas Extraídas de la Torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

Jairo I. González-Linares\*, Mari L. Medina-Vivanco, Richer Garay-Montes y Oscar W. Mendieta-Taboada

Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Departamento Académico de Ingeniería Agroindustrial, Av. Amorarca s/n, Morales, San Martín-Perú.  
(e-mail: jivanlinares@unsm.edu.pe; zuliram\_mv@yahoo.com; garayricher@gmail.com; oscarment@hotmail.com)

\* Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia

*Recibido Feb. 13, 2017; Aceptado Mar. 27, 2017; Versión final May. 15, 2017, Publicado Oct. 2017*

---

### Resumen

El objetivo de este estudio fue utilizar las proteínas extraídas de la torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) para elaborar películas. Se usaron soluciones alcalinas a diferentes valores de pH y precipitación ácida para determinar la máxima extracción de proteína. Las soluciones formadoras de películas, compuestas de proteínas liofilizadas, sorbitol y agua, fueron tratadas térmicamente y secadas. Las películas resultantes fueron sujetas a la evaluación de sus propiedades físicas (color, solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua, espesor y contenido de humedad) para determinar cómo son influenciadas por la concentración de proteína y sorbitol. El rendimiento proteico fue máximo a pH 12. Tanto la concentración de proteína y sorbitol tuvieron efectos significativos sobre las propiedades físicas de las películas ( $p < 0,05$ ). Se estableció una combinación adecuada de proteína y sorbitol para obtener películas de baja solubilidad y permeabilidad. Estos resultados demostraron que es posible utilizar las proteínas del Sacha Inchi como material formador de películas biodegradables/comestibles.

*Palabras claves: Plukenetia volubilis; películas; proteínas; torta residual; propiedades físicas*

## Development of Edible Films from Proteins Extracted from Inka Peanut Kernel Cake (*Plukenetia volubilis* L.)

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the use proteins extracted from the Inka Peanut kernel cake (*Plukenetia volubilis* L.) to elaborate edible films. Alkaline solutions were used at different pH values and acid precipitation to determine the maximum protein extraction. The film forming solutions, composed of lyophilized proteins, sorbitol and water were heat treated and dried. The resulting films were subjected to evaluation of their physical properties (color, water solubility, water vapor permeability, thickness and moisture content) to determine how they are influenced by protein and sorbitol concentration. The protein yield was maximal at pH 12. Both protein and sorbitol concentration had significant effects on the physical properties of the films ( $p < 0.05$ ). A suitable combination of protein and sorbitol was established to obtain films of low solubility and permeability. These results demonstrate that Inka Peanut proteins can be used as biodegradable/edible film forming material.

*Keywords: Plukenetia volubilis; films; proteins; kernel cake; physical properties*

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos cincuenta años muchos estudios sobre caracterización y aplicación de películas biodegradables/comestibles han sido llevados a cabo usando biopolímeros naturales tales como proteínas y carbohidratos con el objetivo de reducir la acumulación de sólidos residuales no biodegradables y plásticos, los cuales han llegado a ser un problema ambiental (Pilla, 2011). Varias proteínas de diversas fuentes vegetales, tales como el maní, soya, lentejas, trigo y arveja, han sido extraídas para usarlas como materiales formadores de películas. Sin embargo, existen otras fuentes de proteínas vegetales que no han sido estudiadas, tal es el caso de la semilla de *Plukenetia volubilis* L., conocido comúnmente como Sacha Inchi o Maní del Inca, la cual es una planta perenne perteneciente a las Euphorbiaceae, nativa de los bosques tropicales de la región andina de América del Sur. Sus semillas sobresalen por contener cerca de 54% de aceite y 27% de proteína (Hamaker et al., 1992). De acuerdo a estos autores el aceite de la semilla del Sacha Inchi contiene altos niveles de ácido linoleico (36,8%) y ácido linolénico (45,2%).

Cerca del 90% de las proteínas del Sacha Inchi pueden ser solubilizadas por solventes acuosos y tienen un mínimo de solubilidad a pH ~4. Sus fracciones proteicas de Osborne: albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas son 43,7%, 27,3%, 3%, y 31,9%, respectivamente, del total de las proteínas hidrosolubles (Sathe et al., 2012). De estas fracciones, resalta la albúmina, una proteína básica (pI ~ 9,4), que representa el 25% del peso de la harina desgrasada de la semilla, fácilmente digeribles, y presentan todos los aminoácidos esenciales en las cantidades adecuadas, cuando son comparadas a los patrones recomendados por la WHO/FAO/ONU para un adulto humano (Sathe et al., 2002).

Tras la extracción de aceite, la torta resultante posee un alto contenido de proteínas, el cual está cerca al 59% (base seca) (Chirinos et al., 2016; Ruiz et al., 2013; Sathe et al., 2012). A pesar de la cantidad y calidad de las proteínas presentes en el Sacha Inchi, éstas no se han aprovechado para elaborar productos con valor agregado como son, por ejemplo, los bioplásticos. Por tanto, los objetivos del presente estudio fueron: extraer proteína de la torta de Sacha Inchi usando extracción alcalina y precipitación ácida, además determinar la influencia de la concentración de las proteínas y sorbitol sobre algunas propiedades físicas de las películas y también optimizar sus propiedades físicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La torta de Sacha Inchi (TSI) fue suministrada por la empresa Shanantina (Lamas, San Martín, Perú) como un pellet sólido. El sorbitol (Sor) (Merck, Millipore, USA) fue usado como plastificante.

### *Acondicionamiento de la torta de Sacha Inchi*

La torta se molió en un molino de discos (Modelo 9F320, Shuanghe, Shandong, China) para reducir el tamaño de partícula y facilitar la extracción de proteína. Luego se tamizó en un sistema de tamices ASTM E 11 (Modelo 316L, Retsch, Haan, Alemania) para homogeneizar el tamaño de partícula de la muestra. Se eligió trabajar con la torta de Sacha Inchi con un tamaño de partícula comprendido entre 180 µm-425 µm.

### *Composición química-proximal de la torta y del aislado proteico de Sacha Inchi*

La torta de Sacha Inchi y el aislado proteico liofilizado fueron analizados para la determinación de humedad, proteína, ceniza, fibra y grasa de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC 935.29, 991.20, 923.03, 962.09, 920.39, respectivamente (AOAC, 1998). La proteína fue calculada multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor de conversión 6,25.

### *Efecto del pH sobre la extracción de proteína*

Se suspendió la torta de Sacha Inchi en agua destilada en razón de 1:10 (m/v). Luego, con la ayuda de un pH metro (Modelo 827 pH Lab, Metrohm, Herisau, Suiza) se ajustó el pH de la suspensión (9, 10, 11 o 12) con NaOH 2,0 N. La suspensión fue agitada a 30°C por 1 h con un agitador de paletas (Modelo R14, CAT, Paso Robles, USA). El residuo insoluble fue removido por centrifugación a 6 000 rpm por 5 minutos en un equipo centrifuga (Modelo C-28A, BOECO, Hamburg, Alemania). El sobrenadante fue colectado y su contenido de proteína fue determinado por el método de Biuret usando albúmina de suero bovino de HiMedia Labs (Mumbai, India) como estándar. El rendimiento de extracción de proteína fue calculado como:

$$\text{Rendimiento de Extracción (\%)} = \frac{\text{proteína extraída}}{\text{proteína en la semilla}} \quad (1)$$

### *Extracción de proteínas a partir de la torta de Sacha Inchi*

El aislado proteico de Sacha Inchi (APSI) fue preparado utilizando el pH que produjo el mayor rendimiento de extracción de proteína. Con la ayuda de un agitador de paletas se mezcló la torta molida con agua destilada en un vaso de precipitado; siendo la relación torta:agua utilizada de 1:10. En seguida se ajustó el pH de la mezcla a 12 con una solución de NaOH a 2 N y se dejó solubilizar bajo agitación constante durante 60 minutos. Transcurrido este tiempo, la mezcla se centrifugó a 6000 rpm por 5 min. El sobrenadante se llevó hasta el punto isoeléctrico de las proteínas pH 4,5 con una solución de HCl a 2 N. Luego se trasvasó la mezcla a tubos para centrifugarla a 6000 rpm por 5 minutos. El precipitado resultante se suspendió en agua destilada y se ajustó el pH a 9. La suspensión se congeló y luego se liofilizó a 5 Pa y -82°C (temperatura del colector) (Modelo 7934042, Labconco, Kansas, USA) de acuerdo a la metodología de Aydemir et al. (2014).

### *Preparación de las películas*

Para la preparación de la solución filmogénica se utilizó el aislado proteico de Sacha Inchi liofilizado en las concentraciones de 5,38%, 6,0%, 7,5%, 9,0% y 9,62%, y sorbitol como plastificante en las concentraciones de 1,55%, 1,85%, 2,575%, 3,3% y 3,6%, adicionándose la cantidad de agua requerida para completar el 100 % de la solución filmogénica. El pH de la suspensión se ajustó a 11 con una solución de NaOH a 2,5 N. Luego se calentó hasta aproximadamente 70°C en un equipo de baño maría (Modelo WNE 14, Memmert, Schwabach, Alemania). Para el tratamiento térmico de la solución filmogénica fue empleado un agitador magnético con placa calefactora (Modelo SP 18420 -26, Nuova-Thermo Fisher, Waltham, USA), realizándose a 85°C por 60 minutos. Transcurrido este tiempo, 15 ml de la solución filmogénica fueron transferidas a placas de petri de vidrio de aproximadamente 165 cm<sup>2</sup> de superficie, las cuales se llevaron a un secador convectivo (Modelo SLW115STD, POL-EKO, Wodzisław Śląski, Polonia), donde se secaron a 35 °C por 18 horas, formándose las películas (casting). Después las placas se colocaron dentro de campanas de vidrio con solución sobresaturada de cloruro de potasio (KCl) (84-85% de HR a 20-25°C), para permitir que las películas se hidraten y se desprendan de la placa. Antes de ser sometidas a la evaluación de sus propiedades físicas las películas fueron almacenadas en campanas de vidrio conteniendo una solución sobresaturada de nitrato de magnesio hexahidratado (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) (52-55% HR a 20-25°C), de acuerdo a la metodología seguida por Chambi et al. (2014).

### *Solubilidad*

Muestras de 2 cm de diámetro fueron pesadas en una balanza analítica de precisión (Modelo GH-200, AND, San Jose, USA) y sumergidas en un vaso conteniendo 100 ml de agua destilada a 23 ± 2 °C, sellado, y agitado a 120 oscilaciones por minuto (opm) por 3 h en un agitador de vaivén (Modelo WB22, Memmert, Schwabach, Alemania) conteniendo agua a temperatura constante de 25°C. Las películas no solubilizadas en agua fueron removidas y secadas en una estufa con convección natural (Modelo ED 080, FRAVILL, Lima, Perú) para determinar el peso de la materia seca existente. La cantidad de materia seca inicial y final en las muestras fue determinada en una estufa a 105°C por 24 horas. Las pruebas fueron realizadas por triplicado. Los resultados fueron expresados como la cantidad de materia soluble total por 100 g de película (Aydemir et al., 2014; Handa et al., 1999).

### *Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA)*

La permeabilidad al vapor de agua fue determinada usando el método ASTM E 96-95 (ASTM, 2000) con algunas modificaciones (Salgado, Molina Ortiz, Petruccelli, y Mauri, 2010). Cada muestra de película fue sellada sobre una abertura circular de 0,003167 m<sup>2</sup> en un vapómetro (Modelo 68-3002, Thwing Albert-Instrument, West Berlin, USA) que fue colocado a 24 °C dentro de un desecador. Para mantener un gradiente de humedad relativa de 100% a través de la película, se colocó agua destilada (100% HR<sub>d</sub>) dentro del vapómetro y sílica anhídrica (0% HR<sub>v</sub>) en el desecador. La HR dentro del vapómetro fue más baja que en los exteriores, y la transferencia del vapor de agua fue determinada a partir del peso perdido por el vapómetro. Cuando las condiciones estacionarias fueron alcanzadas (cerca de 1 h), ocho mediciones del peso fueron hechas a lo largo de 5 horas. Los cambios en el peso del vapómetro fueron registrados y

graficados en función al tiempo. La pendiente de cada línea fue calculada por regresión lineal (Statgraphics Centurion XV) y la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) fue calculada a partir de la pendiente (g H<sub>2</sub>O/s). La PVA (g H<sub>2</sub>O/Pa.s.m) fue calculada como:

$$PVA = \frac{VTVA}{P_v^{H_2O} \cdot (HR_d - HR_v)} \cdot d \quad (2)$$

Donde  $P_v^{H_2O}$  = presión de vapor del agua a saturación (3003.68 Pa) a la temperatura del ensayo (24 °C).  $HR_d$  = HR en el desecador,  $HR_v$  = HR en el vapómetro,  $A$  = área de permeación y  $d$  = espesor de la película (m). Cada valor de PVA representa el valor promedio de dos repeticiones de cada tratamiento.

### Color

El color de las películas se determinó usando un colorímetro triestímulo (Modelo CR-400, Konica-Minolta, Chiyoda, Japón), con iluminante D<sub>65</sub>, ángulo de visión de 10° y una celda de medida con un abertura de 30 mm, usando los parámetros de color CIELab: L\* (Luminosidad), desde negro (0) hasta blanco (100); a\* (Componente Verde-Rojo), desde verde (-) hasta rojo (+); y b\* (Componente azul-amarillo), desde azul (-) hasta amarillo (+) (Paschoalick et al., 2003). Para medir el color de las películas, éstas se colocaron encima de la superficie de un plato blanco estándar. El color de las películas fue expresado como la diferencia de color ( $\Delta E^*$ )

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

donde  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  y  $\Delta b^*$  son los diferenciales entre los parámetros de color de las muestras y los parámetros de color del blanco estándar.

El color del APSI liofilizado también se determinó utilizando el mismo colorímetro, pero en este caso, el polvo fue puesto en un accesorio para material granulado (Paschoalick et al., 2003).

### Contenido de Humedad (%)

El contenido de humedad se determinó como el porcentaje de peso perdido durante el secado, en una estufa a 105°C por 24 horas, de muestras de 2 cm de diámetro pesadas ( $\pm 0,0001$  g) en placas de vidrio, de acuerdo al método de (Rhim et al., 1998). Las mediciones del contenido de humedad fueron hechas por triplicado y reportadas en base húmeda.

### Espesor ( $\mu$ m)

El espesor de las películas fue medido usando un micrómetro digital (Modelo 293-801, Mitutoyo, Japón) con 0-25 mm de amplitud y graduación de 0,001 mm. El espesor final fue el promedio de 3 mediciones hechas alrededor del perímetro y una en el centro. La permeabilidad al vapor de agua fue calculada usando el espesor promedio de cada película replicada (Martelli et al., 2006).

### Diseño Experimental y Análisis estadístico

La evaluación de la influencia del pH de extracción de proteína en el rendimiento de extracción se llevó a cabo mediante análisis de varianza de una vía y análisis gráfico. El diseño experimental utilizado para el desarrollo y evaluación de las películas fue del tipo compuesto con punto central 2<sup>2</sup>, considerando dos variables independientes (concentración de aislado proteico de Sacha Inchi y concentración de sorbitol) con dos niveles factoriales (-1, +1), puntos centrales (0) y puntos axiales  $-\alpha$  (-1,4142) y  $+\alpha$  (+1,4142). Los efectos de los diferentes factores fueron analizados mediante análisis de varianza y gráficas de superficie de respuesta, usando Statgraphics Centurion® XV, y Statistica® 12. Además los datos fueron ajustados a una ecuación de primer orden (Ecuación 4) o de segundo orden (Ecuación 5) como función de las variables independientes:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \quad (4)$$

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (5)$$

donde  $\beta_0$  son coeficientes constantes de regresión,  $Y_i$  son las respuestas (Solubilidad, Permeabilidad al Vapor de Agua, Color, Contenido de Humedad, Espesor), y  $X_i$  son los factores (concentración de proteína  $X_1$ ; concentración de sorbitol  $X_2$ ). El análisis estadístico de estos datos fue llevado a cabo con un nivel de confianza del 95% ( $P < 0,05^*$ ) y del 90% ( $P < 0,1^{**}$ ).

#### *Optimización de la permeabilidad al vapor de agua y la solubilidad*

El proceso de optimización consistió en establecer las concentraciones de APSI y Sor que minimizaran tanto la permeabilidad al vapor de agua como la solubilidad, utilizando la técnica de la superposición de las gráficas de contorno de cada respuesta. La superposición de las gráficas de contorno se llevó a cabo usando Statistica® 12. La determinación de las condiciones de operación apropiadas se realizó por inspección visual de la gráfica superpuesta.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en varias subsecciones para una mejor presentación y discusión: composición química de la torta de Sacha Inchi, efecto del pH en el rendimiento de extracción de proteína, composición químico-proximal del aislado proteico de Sacha Inchi, diseño experimental completo, solubilidad, permeabilidad al vapor de agua, espesor, color, diferencia de color, luminosidad, componente rojo-verde, componente azul-amarillo, contenido de humedad y optimización de las películas de APSI

#### *Composición química de la torta de Sacha Inchi*

La composición química de la torta de Sacha Inchi se presenta en la Tabla 1. La torta de Sacha Inchi tiene alto contenido de proteína (59,59%). El contenido de proteínas mostrado en este estudio fue similar a lo que reportaron Chirinos et al., (2016); Ruiz et al., (2013), y Sathe et al., (2012). El contenido de los otros componentes reportados por otros autores en la harina desengrasada presentan diferencias debido a las características propias de los cultivares de Sacha Inchi, condiciones de crecimiento, condiciones de clima y suelo, y método de extracción de aceite.

Tabla 1: Composición química de la torta de Sacha Inchi en base seca.

Componente	%			
	Este trabajo	Sathe et al.,(2012)	Ruiz et al. (2013)	Chirinos et al. (2016)
Proteína	59,59±0,84	59,1 ± 3,3	59,0±0,7	58,4
Grasa	6,18±0,47	-	7,8±0,2	8,9
Ceniza	5,49±0,01	6,46	4,08±0,2	5,7
Fibra cruda	17,5±0,37	-	4,5±0,6	4,1
Carbohidratos	11,25±2,39	1,03	23,9±1,7	22,7
Contenido de Humedad (base húmeda)	9,51±0,19	8,32±0,11	-	7,9

#### *Efecto del pH en el rendimiento de extracción de proteína*

En la Figura 1 se muestra el rendimiento de extracción de proteína a partir de la torta de Sacha Inchi (TSI) en función al pH. Se encontró que fue más bajo a pH 9. Pero aumenta marcadamente conforme el pH aumenta. Este resultado sugiere que la proteína de la torta de Sacha Inchi se solubiliza mejor bajo condiciones alcalinas. La extracción a pH 12 presentó el máximo valor de rendimiento con una recuperación de  $72,2 \pm 1,43$  % de proteínas de las presentes en la torta de Sacha Inchi. En consecuencia se logró obtener un  $28,39 \pm 1,88$ % de aislado proteico de Sacha Inchi (APSI) liofilizado a partir de la torta de Sacha Inchi. El rendimiento proteico obtenido de este trabajo es comparable al obtenido por Sathe et al. (2012) quienes lograron recuperar 69,25-79,52% de proteína extrayéndolas con una solución de NaCl 1M en un rango de pH 1-12, relación torta:solvente 1:10 (m/v), temperatura ambiente y tiempo de extracción de 1 hora; para cuantificar el rendimiento proteico utilizaron el método de Lowry. Recientemente, Chirinos et al. (2016) recuperaron 29,7% de proteína con una solución de NaCl 1,65 M, relación torta:solvente 1:42 (m/v), pH 9,5, 54,2°C por 30 minutos; utilizaron el método de Lowry. La diferencia entre los rendimientos podría ser atribuida principalmente a la relación torta:solvente y al grado de desnaturalización que sufrieron las proteínas durante la extracción de aceite debido a la fricción generada en la prensa (Chirinos et al., 2016)

Cabe mencionar que durante el ajuste del pH desde 11 hasta 12, la dispersión generó un olor azufrado y un incremento importante de la viscosidad, la que disminuyó paulatinamente durante la agitación. Esto puede deberse a la ruptura de los enlaces disulfuro por efecto del pH, afectando la estructura terciaria de la proteína (Belitz et al., 2009), con el consiguiente incremento de la viscosidad intrínseca (Damodaran, 2008).

La precipitación de la proteína fue realizada ajustando el pH de la dispersión proteica, notándose que en torno de pH 9,5 disminuye la solubilidad de la proteína, tendiendo a formar un precipitado, el cual podría tratarse de la albúmina reportada por Sathe et al. (2002). Al continuar disminuyendo el pH y alcanzar el valor 4,5 se pudo observar la formación de partículas blanquecinas que se fueron agregando para formar un precipitado en el fondo del vaso.

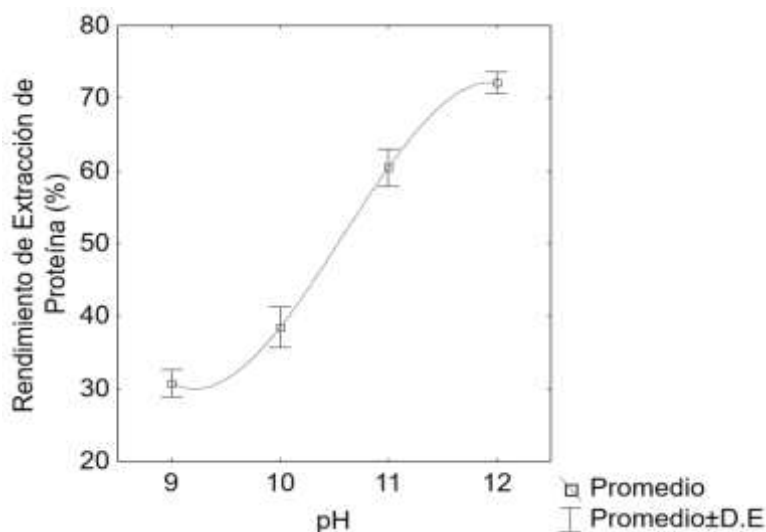


Fig. 1: Curva de rendimiento de extracción de proteína.

#### Composición químico-proximal del aislado proteico de Sacha Inchi

La composición proximal del APSI se presenta en el Tabla 2. El contenido de proteína del aislado fue de  $89,1 \pm 0,88$  % el cual es mucho más alto que en la torta. El contenido de proteína en el aislado presentado en este trabajo fue superior al obtenido a partir de soya ( $85,02 \pm 1,20\%$ ) y girasol ( $75,42 \pm 0,37\%$ ) por Salgado et al., (2010) y Salgado, (2009), respectivamente, y comparable al obtenido a partir de piñón ( $90,1 \pm 0,8\%$ ) por Saetae et al. (2011).

Tabla 2: Composición químico proximal del aislado proteico de Sacha Inchi en base seca.

Componente	%
Proteína	$89,1 \pm 0,88$
Grasa	$6,54 \pm 0,08$
Ceniza	$3,29 \pm 0,07$
Fibra cruda y Carbohidratos Disponibles	$1,07 \pm 1,46$
Contenido de Humedad (base húmeda)	$3,69 \pm 0,31$

#### Diseño experimental completo

Los resultados del diseño central compuesto  $2^2$  se resumen en la Tabla 3 y los coeficientes de regresión se muestran en la Tabla 4. Los datos del color ( $\Delta E^*$ ,  $L^*$  y  $b^*$ ), y solubilidad se ajustaron mejor a un modelo cuadrático ( $P < 0,05$ ). Mientras que la PVA se ajustó mejor a un modelo lineal ( $p < 0,05$ ).

Tabla 3: Matriz de experimentos del diseño central compuesto con los valores de los factores y respuestas del color, solubilidad, permeabilidad al vapor de agua, espesor y humedad.

Tratamiento	Factores				Respuestas														
	% APSI		% Sor		Color					Solubilidad (%)					PVA (10 <sup>-10</sup> g m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> )		Espesor (µm)		Humedad (%)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>11</sub>	Y <sub>12</sub>	L*	Y <sub>12</sub>	a*	Y <sub>13</sub>	b*	Y <sub>14</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>		
1	6 (-1)	1,85 (-1)	13,47±0,91	89,74±0,47	0,35±0,04	12,74±0,78	0,35±0,04	12,74±0,78	38,16±0,84	2,24±0,10	90,00±4,9	11,68±1,22							
2	6 (-1)	3,3 (1)	10,32±0,11	91,56±0,13	0,14±0,03	10,17±0,08	0,14±0,03	10,17±0,08	47,78±1,19	2,95±0,01	108,75±3,40	11,45±1,52							
3	9 (1)	1,85 (-1)	16,48±0,48	88,25±0,23	0,20±0,05	15,37±0,43	0,20±0,05	15,37±0,43	27,66±0,8	3,00±0,08	132±6,98	10,81±0,60							
4	9 (-1)	3,3 (1)	12,61±0,14	90,37±0,18	0,26±0,04	12,13±0,05	0,26±0,04	12,13±0,05	40,36±0,47	3,38±0,01	138,25±5,85	11,86±0,81							
5	7,5 (0)	2,575 (0)	11,79±0,07	91,49±0,03	-0,03±0,03	11,89±0,10	-0,03±0,03	11,89±0,10	43,51±2,33	3,07±0,23	136,50±1,29	8,41±0,44							
6	7,5 (0)	2,575 (0)	13,32±1,27	89,99±1,28	0,03±0,12	12,73±0,71	0,03±0,12	12,73±0,71	46,52±1,27	2,80±0,16	101,50±1,00	7,53±0,88							
7	7,5 (0)	2,575 (0)	14,42±1,11	88,87±0,65	0,05±0,06	13,29±0,90	0,05±0,06	13,29±0,90	45,99±0,82	2,45±0,03	116,00±2,94	8,03±0,58							
8	7,5 (0)	2,575 (0)	14,36±1,08	89,19±0,57	0,16±0,06	13,44±0,93	0,16±0,06	13,44±0,93	40,26±0,50	3,08±0,01	114,50±9,26	8,50±1,21							
9	7,5 (0)	2,575 (0)	14,09±1,20	89,35±0,70	0,12±0,04	13,23±0,98	0,12±0,04	13,23±0,98	41,06±0,85	2,94±0,01	124,50±6,19	7,47±0,41							
10	9,62 (α)	2,575 (0)	16,93±0,70	87,61±0,43	0,14±0,03	15,46±0,56	0,14±0,03	15,46±0,56	33,46±0,18	-	-	8,92±0,72							
11	5,38 (-α)	2,575 (0)	13,44±0,65	89,16±0,46	0,07±0,06	12,27±0,47	0,07±0,06	12,27±0,47	43,86±0,25	-	-	9,24±1,00							
12	7,5 (0)	3,60 (α)	10,05±0,20	91,96±0,25	-0,18±0,03	10,12±0,12	-0,18±0,03	10,12±0,12	48,83±2,17	-	-	7,03±1,35							
13	7,5 (0)	1,55 (-α)	12,54±0,12	91,63±0,31	-0,05±0,04	12,93±0,12	-0,05±0,04	12,93±0,12	31,54±1,13	-	-	9,08±0,35							

Tabla 4: Coeficientes de regresión y análisis de varianza para las variables respuestas.

Coeficientes	Color				Solubilidad				PVA				Espesor				Humedad						
	ΔE*		L*		a*		b*		Y <sub>2</sub>		Y <sub>3</sub>		Y <sub>4</sub>		Y <sub>5</sub>		Y <sub>3</sub>		Y <sub>4</sub>		Y <sub>5</sub>		
	Y <sub>11</sub>	Y <sub>12</sub>	Y <sub>13</sub>	Y <sub>14</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>5</sub>
Constante	13,84337*	86,47356*	-	10,81593*	-32,77694*	-1,01300*	-49,06897*	56,45825	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lineal																							
β <sub>0</sub>																							
β <sub>1</sub>	-3,98416*	4,24308	-	-1,85411*	13,03154*	0,38993*	19,31609*	-9,29265	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β <sub>2</sub>	10,74532*	-9,36917	-	6,50927*	21,11637*	0,93655*	30,17241**	-9,99658	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuadrático																							
β <sub>11</sub>	0,35089**	-0,32178**	-	0,20061**	-1,17169*	-	-	0,56338*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β <sub>22</sub>	-2,19834*	1,86635*	-	-1,36718*	-3,56647*	-	-	1,43931*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Interacción																							
β <sub>12</sub>	-0,16552	0,068966	-	-0,15402	0,70881	-0,074828	-2,87356	0,29673	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R <sup>2</sup>	86,97%	74,54%	-	93,24%	90,95%	67,94%	62,99%	35,51%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Valor calculado F	9,34	4,10	-	19,31	66,29	9,89	18,16	3,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Valor crítico F	3,97	3,97	-	3,97	2,51	3,34	2,90	2,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Los modelos obtenidos para la diferencia de color ( $Y_{11}$ ), luminosidad ( $Y_{12}$ ), componente amarillo-azul ( $Y_{14}$ ) y solubilidad ( $Y_2$ ) tuvieron un buen coeficiente de determinación  $R^2$  (entre 0,75 y 0,95); el análisis de varianza (ANOVA) para estos modelos indicaron que fueron significativos estadísticamente ( $P < 0,05$ , valor calculado de  $F >$  valor crítico de  $F$ ). Sin embargo, los modelos para la permeabilidad al vapor de agua, el espesor y la humedad tuvieron bajos coeficientes de determinación ( $R^2$  de 67,94%, 61,63%, 35,5%, respectivamente).

### Solubilidad (%)

La solubilidad de las películas elaboradas en el presente trabajo estuvo en el rango de 27,66 – 48,83%, tal como se muestra en la Tabla 3. El valor más bajo de solubilidad (27,66%) de las películas de APSI es comparable al de películas hechas de aislado proteico de lactosuero (Leuangskrererk et al., 2014) que presenta un valor para la solubilidad de alrededor de 20%. Mientras que el valor más alto de solubilidad (48,83%) de las películas de APSI es comparable al de películas hechas de concentrado proteico de ricinoglixal (Makishi et al., 2013) que presenta un valor de alrededor de 48,4%.

El ANOVA de la variable solubilidad revela que los dos factores ejercen influencia significativa sobre la solubilidad de las películas de APSI ( $P < 0,05$ ). En la Figura 2a se puede ver que el efecto de la concentración de Sor es más marcado que la concentración de APSI. Además se aprecia que cuando la concentración de APSI aumenta, la solubilidad disminuye. En contraste cuando la concentración de sorbitol aumenta, la solubilidad aumenta hasta llegar a un máximo. Por último, se observa que la película es menos soluble cuando la concentración de APSI es alta (mayor a 7,8%) y la concentración de Sor es baja (menor a 2,14%). Conociendo esto se pueden producir películas con baja solubilidad, incrementando la concentración APSI y disminuyendo la concentración de Sor, o con alta solubilidad, disminuyendo la concentración de APSI e incrementando la concentración de Sor, en el rango estudiado. La baja solubilidad de las películas de APSI podría ser explicada por la alta densidad de interacción y la presencia de enlaces intermoleculares del tipo disulfuro como resultado del tratamiento térmico (McHugh y Krochta, 1994).

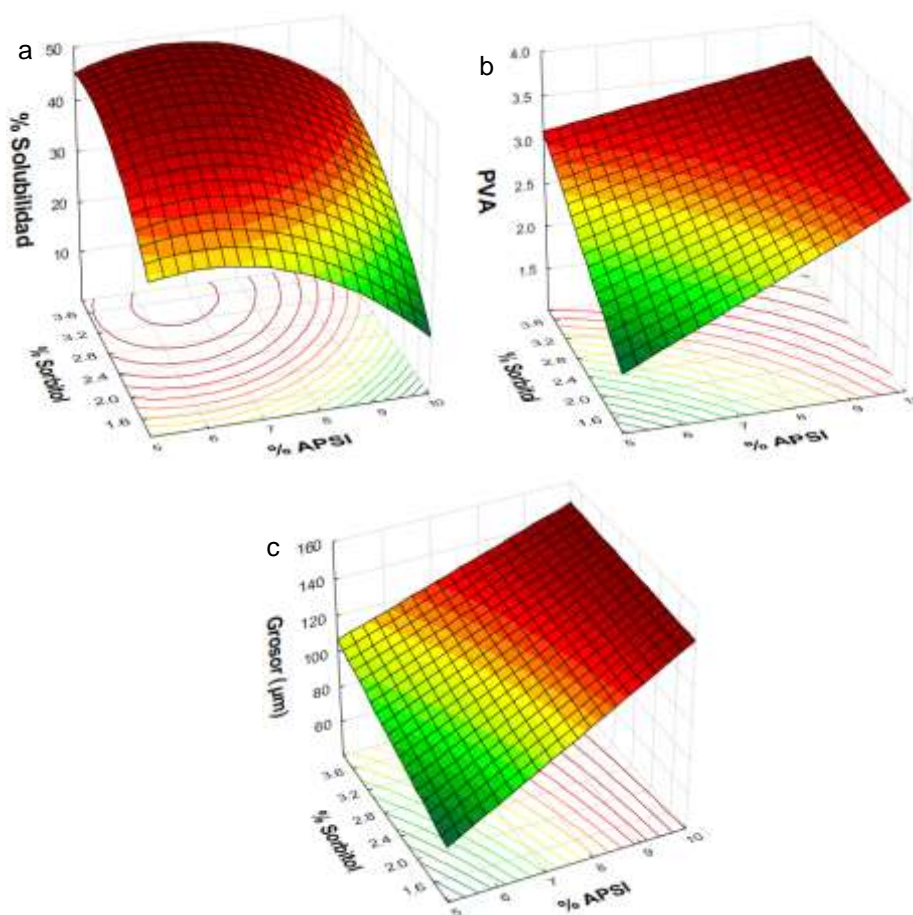


Fig. 2: Superficies de respuesta como función de las concentraciones de proteína (%) y sorbitol (%) para (a) la solubilidad, (b) permeabilidad al vapor de agua, y (c) espesor, de las películas.



El hecho de que una película sea poco soluble, probablemente se deba a que la red polimérica proteica de tales películas es altamente estable, en consecuencia solo las pequeñas moléculas serán solubles (e.g. pequeños péptidos, monómeros y materiales no proteicos) (Yoshida y Antunes, 2004). Denavi et al., (2009) han reportado que la solubilidad de las películas de aislado proteico de soya preparadas por casting, también fueron afectadas significativamente por las condiciones de secado (HR y temperatura).

#### *Permeabilidad al vapor de agua*

Los valores de PVA de las películas se encontraron en el rango de 2,178 y 3,383  $10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  tal como se presenta en la Tabla 3. Para comparar estos valores se deben tener en cuenta las condiciones de ensayo, ya que tanto la gradiente de HR como la temperatura de ensayo influyen sobre la PVA de las películas (Gennadios et al., 1994). Teniendo esto en cuenta, se puede afirmar que las películas de APSI se comportan mejor como barrera al vapor de agua que las películas hechas de concentrado proteico de lenteja (3,095±0,020) a 25°C y 0-100% HR (Bamdad et al., 2006), concentrado proteico de soya (3,09±0,30) a 25°C y 0-65% HR (Ciannamea et al., 2014), aislado proteico de soya (3,36±0,19) a 20°C y 0-80% HR (Jiang et al., 2012). Pero no mejor barrera a la permeabilidad que películas sintéticas como el polietileno de alta densidad (0,003), polietileno de baja densidad (0,011), Nylon-6 (0,081), polietileno tereftalato (0,014) y polipropileno (0,005) (Doyon et al., 2009).

El ANOVA para la permeabilidad al vapor de agua (PVA) revela que el contenido de APSI y Sor influyen significativamente sobre la PVA ( $P < 0,05$ ). En la Figura 2b se observa el comportamiento de la PVA en función a las concentraciones de APSI y Sor. En el rango estudiado, se ve que la permeabilidad se incrementa con la concentración de APSI y Sor, y que la mínima permeabilidad se logra empleando bajos contenidos de APSI y Sor. Este comportamiento fue explicado por Anker (2000), quién basándose en el estudio de la microestructura de películas de lactosuero, concluyó que cuando la concentración de proteína aumenta, la estructura se vuelve más agregada y la red proteica más densa y con grandes poros, lo que resulta en aumento de la permeabilidad.

Por otro lado, de acuerdo a Cuq et al. (1997) citados por Sobral et al. (2001), el incremento de la PVA con el incremento de la concentración de plastificante se explica por la disminución de la densidad de la red proteica y, por consiguiente se torna más permeable. El incremento en el volumen libre del sistema también eleva la movilidad del solvente, por consiguiente incrementando la difusión de agua en la matriz de la película. Otro factor que también afecta la PVA es el carácter higroscópico de los plastificantes, lo cual incrementa el contenido de agua de la película, por consiguiente, incrementando la movilidad de las moléculas.

#### *Espesor ( $\mu\text{m}$ )*

Los datos del espesor se ajustaron mejor a un modelo lineal ( $p < 0,05$ ) aunque con un bajo coeficiente de determinación  $R^2$  (0.6163). El espesor de las películas obtenidas en el presente trabajo fue de  $118 \pm 16,12 \mu\text{m}$ . Este resultado se obtuvo vaciando el mismo volumen (15 ml) a la placa de soporte donde las películas fueron formadas, tratando de evaluar la influencia de las variables sobre el espesor resultante en las películas. La relación plastificante:proteína fue utilizada para comparar el efecto que tiene la fuente proteica sobre el espesor de las películas. En este trabajo, la relación plastificante:proteína para hacer la comparación de espesor fue 1:3 (-0,3) que coincide, aproximadamente, con el tratamiento del punto central, esto es 7,5% proteína y 2,575% sorbitol, produciendo una película de  $118,6 \pm 12,75 \mu\text{m}$ . Debido a esto, las películas basadas en proteína de Sacha Inchi fueron más gruesas que películas de de una mezcla de mucílago de chíá y concentrado proteico de lactosuero (90-110  $\mu\text{m}$ ) (Muñoz et al., 2012); menos gruesas que las películas de concentrado proteico de soya ( $143 \pm 22 \mu\text{m}$ ) (Ciannamea et al., 2014); y de espesor comparable a películas de harina de soya desengrasada ( $100 \pm 30 \mu\text{m}$ ) (Lee y Min, 2013) y películas de concentrado proteico de ricino-glioxal (116-126  $\mu\text{m}$ ) (Makishi et al., 2013).

El ANOVA del espesor (Tabla 4) puso de manifiesto que la concentración de APSI y de Sor influyeron significativamente sobre el espesor ( $P < 0,05$ ). Siendo la concentración de APSI la que más influye sobre el espesor dado su alto porcentaje de contribución a la varianza del espesor (54,43%) frente al Sor (5,96%). En la Figura 2c se presenta la superficie de respuesta del espesor en función de la concentración de APSI y Sor, donde se observa el comportamiento del espesor de las películas de APSI frente a la concentración de APSI y Sor. Allí se observa que el espesor se incrementa con la concentración tanto de APSI como de Sor. Además se puede observar que utilizando alta concentración de APSI (por encima de 8%) se pueden producir películas más gruesas casi independientemente de la concentración de Sor (entre 1,85 y 3,3%).

Algunos autores observaron el incremento del espesor con el incremento de la concentración de proteína en películas de aislado proteico de lactosuero (Gounga, Xu, y Wang, 2007; Kokoszka et al., 2010). Denavi et al. (2009) en su trabajo observaron que la fuente de proteína influye sobre el espesor de las películas, por ejemplo, con la misma concentración de proteína, soluciones filmogénicas de gelatina dieron lugar a películas más gruesas ( $86 \pm 11 \mu\text{m}$ ) que las hechas con aislado proteico de soya ( $47 \pm 10 \mu\text{m}$ ). Indicando un menor grado de compactación de las películas de gelatina, y en consecuencia sugiriendo, un diferente grado de desdoblamiento molecular o reticulación dentro de la red proteica de la película. La influencia del peso molecular del plastificante sobre el espesor de las películas fue observado cuando se utilizó polietilenglicol en películas de gelatina, tendiendo a incrementarse el espesor con el peso molecular (Cao et al., 2009).

Schou et al., (2005) observaron que el contenido de glicerol no influyó significativamente sobre el espesor de películas de caseinato de sodio pero sí sobre la humedad de las películas, concluyendo que el incremento de agua no condujo a la expansión de la estructura proteica, o el incremento no pudo ser detectado por la tecnología usada. El mismo resultado fue observado en películas de keratina de plumas de pollo (Martelli et al., 2006). Gounga et al., (2007) observaron un ligero incremento del espesor con la concentración de glicerol en películas de aislado proteico de lactosuero, pero no fue significativo. Jangchud y Chinnan, (1999) observaron que el espesor de películas hechas de proteína de maní se incrementó con la humedad relativa imperante en el medio. Lo mismo fue observado en películas hechas con aislado proteico de lactosuero (Anker et al., 1999). Este fenómeno se explica de acuerdo a la ciencia clásica de polímeros, que asevera que el agua y los plastificantes debilitan las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de macromoléculas adyacentes, incrementando el volumen libre de la estructura (Jastrzebski, 1987).

### Color

En la Tabla 5 se presentan los parámetros de color del blanco estándar y del APSI liofilizado. Todas las películas a base de APSI elaboradas en este trabajo presentaron tonalidad amarillo-marrón. Los parámetros de color han sido estudiados en películas de proteínas de músculo de tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Paschoalick et al., 2003), proteínas de músculo de tilapia de Nilo variedad Thai (Sobral et al., 2005), aislado proteico de soya y gelatina de bacalao (*Gadus morhua*) (Denavi et al., 2009), concentrado proteico de ricinoglixal (*Ricinus communis* L.) (Makishi et al., 2013), y harina desgrasada de soya (*Glycine max*) (Lee y Min, 2013).

Tabla 5: Parámetros de color del plato de blanco estándar y del APSI liofilizado.

	L*	a*	b*
Blanco estándar	97,63	0,04	1,82
APSI liofilizado	82,43	0,44	15,16

### Diferencia de Color $\Delta E^*$

Los valores de  $\Delta E^*$  de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 10.05-16.93, tal como se muestra en la Tabla 3. Cuando se analiza el comportamiento de  $\Delta E^*$  en función a sus parámetros componentes ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ), se podría sugerir que el comportamiento de  $\Delta E^*$  se debió principalmente a la variación del parámetro  $b^*$ .

Por otro lado, el ANOVA para la diferencia de color pone en evidencia que la concentración de APSI y Sor influyeron significativamente sobre la diferencia de color. En la Figura 3a se aprecia el comportamiento de  $\Delta E^*$  frente a la concentración de APSI y Sor. A medida que la concentración de APSI aumenta, el incremento de  $\Delta E^*$  es cada vez mayor. En cambio, a medida que la concentración de Sor aumenta,  $\Delta E^*$  es cada vez mayor hasta llegar a un punto en el que este valor es máximo. Dentro del rango estudiado, también se puede observar que altos valores de concentración de sorbitol (por encima de 3 %) producen colores más parecidos al color patrón (bajos valores de  $\Delta E^*$ ) casi independientemente de la concentración de APSI. Mientras que, altos valores de concentración de proteína (por encima de 8%) producen colores menos parecidos al color patrón (altos valores de  $\Delta E^*$ ) casi independientemente de la concentración de sorbitol (dentro del rango estudiado).

Algunos autores han reportado que el incremento de la temperatura de tratamiento térmico y la concentración de proteína causa un aumento en la diferencia de color y que ésta depende en parte del color inicial del material formador de película (Paschoalick et al., 2003; Sobral et al., 2005). En este sentido, los valores de  $\Delta E^*$  estuvieron bien relacionados con el color ( $\Delta E^* = 20,22$ ) del APSI liofilizado (Ver Tabla 5). Por lo general, la diferencia de color disminuye con el incremento de la concentración de sorbitol (Lee y Min, 2013; Paschoalick et al., 2003; Sobral et al., 2005), debido probablemente a un efecto de dilución de las proteínas ya que el sorbitol es incoloro cuando está en solución. Esto implica que a medida que la concentración de sorbitol se incrementa, la película debería presentar menos color de tal manera que la diferencia de color tenderá a cero (Paschoalick et al., 2003).

#### *Luminosidad ( $L^*$ )*

Los valores de luminosidad ( $L^*$ ) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 87,61-91,96 como se muestra en la Tabla 3. El ANOVA para la luminosidad (Tabla 4) pone de manifiesto que los dos factores ejercen influencia significativa sobre la luminosidad de las películas ( $P < 0,05$ ). En la Figura 3b se observa el comportamiento de  $L^*$  en función de las concentraciones de APSI y Sor. A medida que la concentración de APSI aumenta, la luminosidad es cada vez menor hasta alcanzar un máximo, luego del cual la luminosidad alcanza valores bajos casi independientemente de la concentración de sorbitol (dentro del rango estudiado). Mientras que, cuando la concentración de Sor va en aumento, la luminosidad de las películas es cada vez mayor, pasando por un mínimo, llegando luego a producir colores más claros casi independientemente de la concentración de APSI (dentro del rango estudiado).

El incremento de la luminosidad con el contenido de plastificante también fue observado para películas hechas de harina de mostaza (Hendrix et al., 2012) y de harina de soya desgrasada (Lee y Min, 2013). El incremento de la luminosidad como consecuencia del aumento de la concentración de APSI, notoriamente visible en un estrecho rango de concentración de APSI (5-6,5%) fue observado para películas compuestas de aislado proteico de soya (APS)-gelatina (Denavi et al., 2009) en las que la luminosidad aumentó a medida que la proporción de APS se incrementó.

#### *Componente Rojo – Verde ( $a^*$ )*

Los valores del componente Rojo - Verde ( $a^*$ ) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de (-0,18) – (+0,35) tal como se muestra en la Tabla 3. El análisis estadístico de ajuste de la variable  $a^*$  pone de manifiesto que ningún modelo es significativo y que el mejor predictor de la respuesta es el promedio general de los tratamientos ( $\bar{x} = 0.096692$ ). La cercanía de este valor a cero sugiere que las películas de APSI y Sor no poseen tonalidades rojas o verdes. Este resultado da a entender que ni la concentración de APSI, ni la concentración de Sor influyeron sobre el parámetro  $a^*$ , dentro del rango estudiado. Resultado similar fue observado en películas de gelatina de bacalao-aislado proteico de soya (Denavi et al., 2009), concentrado proteico de ricino-glioxal (Makishi et al., 2013) y concentrado proteico de soya (Ciannamea et al., 2014). No obstante, para películas de harina de soya desengrasada-Sistema lactoperoxidasa (Lee y Min, 2013) se observó que un aumento en la concentración de glicerol disminuye el parámetro  $a^*$ .

#### *Componente azul – amarillo ( $b^*$ )*

Los valores del componente azul – amarillo ( $b^*$ ) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 10,12 – 15,46, tal como se muestra en la Tabla 3. Los valores  $b^*$  en todos los tratamientos son positivos por lo que el color de las películas tienden hacia tonalidades amarillas. Películas de proteína de músculo de tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Paschoalick et al., 2003) y harina de soya desgrasada (Lee y Min, 2013) fueron caracterizadas mejor por el parámetro  $b^*$  debido que presentaron tonalidades amarillas, con valores de 11,34, 4,81, y 27,10, respectivamente.

El ANOVA del parámetro  $b^*$  revela que los dos factores ejercen influencia significativa sobre el parámetro  $b^*$  de las películas ( $P < 0,05$ ). De modo que, a medida que la concentración de APSI aumenta, la película producida es más amarilla (Figura 3c). Mientras que el incremento de la concentración de Sor ocasiona que la película sea cada vez menos amarilla hasta alcanzar un valor máximo, luego del cual las películas llegan a ser menos amarillas casi independientemente de la concentración de proteína (dentro del rango estudiado). La Figura 3c también pone de manifiesto que la mayor tonalidad amarilla de las películas se

pueden producir con concentraciones altas de APSI (mayores a 7,8 %) y bajas concentraciones de Sor (1,85 – 2,5%) dentro del rango estudiado. El comportamiento de  $b^*$  frente a APSI fue observado en películas de aislado proteico de soya-gelatina de piel de bacalao (Denavi et al., 2009). En tanto que el comportamiento de  $b^*$  frente a Sor fue observado en películas de harina desgrasada de soya (Lee y Min, 2013).

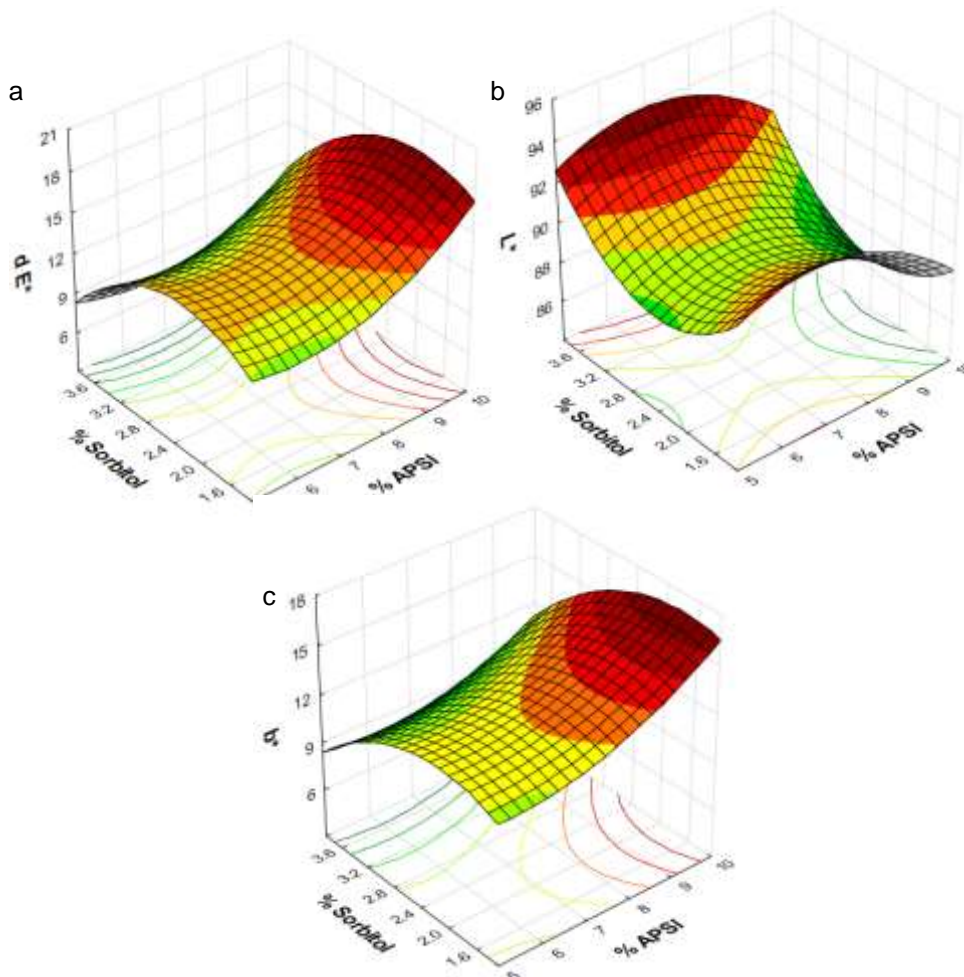


Fig. 3: Superficies de respuesta como función de las concentraciones de proteína (%) y sorbitol (%) para (a) la diferencia de color, (b) luminosidad de las películas, y (c) componente amarillo-azul.

El ANOVA del parámetro  $b^*$  revela que los dos factores ejercen influencia significativa sobre el parámetro  $b^*$  de las películas ( $P < 0,05$ ). De modo que, a medida que la concentración de APSI aumenta, la película producida es más amarilla (Figura 3c). Mientras que el incremento de la concentración de Sor ocasiona que la película sea cada vez menos amarilla hasta alcanzar un valor máximo, luego del cual las películas llegan a ser menos amarillas casi independientemente de la concentración de proteína (dentro del rango estudiado). La Figura 3c también pone de manifiesto que la mayor tonalidad amarilla de las películas se pueden producir con concentraciones altas de APSI (mayores a 7,8 %) y bajas concentraciones de Sor (1,85 – 2,5%) dentro del rango estudiado. El comportamiento de  $b^*$  frente a APSI fue observado en películas de aislado proteico de soya-gelatina de piel de bacalao (Denavi et al., 2009). En tanto que el comportamiento de  $b^*$  frente a Sor fue observado en películas de harina desgrasada de soya (Lee y Min, 2013).

#### Contenido de humedad (%)

El promedio del contenido de humedad de las películas de APSI fue de  $9,23 \pm 1,81\%$  (Tabla 3). Estos valores son menores que los reportados en estudios acerca de películas proteicas de lenteja ( $23,15 \pm 1,6\%$ ) (Bamdad et al., 2006), aislado proteico de lactosuero ( $16,48 \pm 1,5\%$ ) (Gounga et al., 2007) y aislado proteico de soya ( $25,2 \pm 1,0\%$ ) (Rhim et al., 1998).

Algunos autores comprobaron que el tipo de plastificante usado influye sobre el contenido humedad de las películas resultantes. Esto debido a la diferencia de hidrofiliidad e higroscopicidad de los plastificantes empleados en la elaboración de películas (Cao et al., 2009; Kowalczyk y Baraniak, 2011). Estos últimos determinaron que el contenido de humedad de las películas de proteína de arveja plastificadas con glicerol fue mayor que las películas plastificadas con sorbitol ( $P < 0,05$ ). El ANOVA (Tabla 4) para la humedad manifiesta muy baja correlación ( $R^2 = 35,51$ ) entre el contenido de humedad de las películas y las concentraciones de APSI y Sor. Lo que significaría que estas variables no influyeron significativamente sobre el contenido de humedad de las películas, pese a la existencia del efecto cuadrático del contenido de APSI y contenido de Sor sobre el contenido de humedad ( $P < 0,05$  y  $P < 0,1$ , respectivamente).

La baja influencia del contenido de sorbitol sobre el contenido de humedad también fue reportado por Kowalczyk y Baraniak (2011). Sin embargo, éstos y otros autores evidenciaron incrementos del contenido de humedad con la concentración de otros plastificantes como el glicerol, polipropilenglicol, etilenglicol y dietilenglicol (Ciannamea et al., 2014; Kowalczyk y Baraniak, 2011; Vanin et al., 2005; Schou et al., 2005) los cuales son más hidrófilos que el sorbitol. Por su parte, la ausencia del efecto del contenido de proteína sobre el contenido de humedad, fue reportado por Makishi et al., (2013), quienes reportaron que ni la concentración de proteína ni el tipo agente reticulante presentaron efectos significativos sobre la humedad de las películas hechas de proteínas de ricino (*Ricinus communis* L.). No obstante, el efecto del tipo de proteína sobre el contenido de humedad sí fue reportado en varios trabajos de investigación. La poca variabilidad del contenido de humedad de las películas de APSI es importante desde el punto de vista tecnológico, ya que cualquier diferencia en el contenido de humedad podría afectar las propiedades físicas del material, debido al fuerte efecto plastificante de la molécula de agua sobre los biopolímeros (Sobral et al., 2001).

#### Optimización de las películas de APSI

Tras la obtención de las gráficas de contorno de las variables respuesta, permeabilidad y solubilidad, se hizo la superposición de las mismas obteniendo una región óptima (Figura 4) donde la solubilidad y la PVA de las películas se minimizaron a intervalos definidos entre 21,25% y 29,18%, y  $2,71-2,97 \cdot 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente. Esto significaría que se pueden obtener películas con baja solubilidad y permeabilidad utilizando combinaciones de APSI y Sor que caen dentro de la región óptima. Es decir, utilizando concentraciones de sorbitol y proteína comprendidos entre 1,40% - 1,80% y 8,2% - 9,3%, respectivamente. Estos valores dan cuenta de la existencia de una relación plastificante:proteína de entre 0,15 y 0,20 g de plastificante/g de proteína, que producirían resultados apropiados de permeabilidad al vapor de agua y solubilidad.

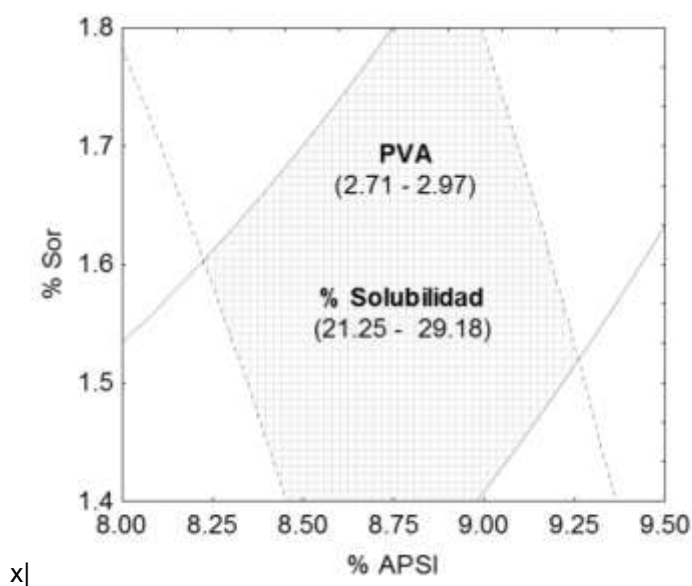


Fig. 4: Superposición de las gráficas de contorno de las variables PVA y solubilidad (%)

## CONCLUSIONES

El máximo rendimiento en la extracción de la proteína se obtuvo a pH 12 y 4,5 en la solubilización y precipitación isoelectrica, respectivamente. Se verificó que las propiedades físicas de las películas obtenidas ( $\Delta E^*$ ,  $L^*$ ,  $b^*$ , solubilidad, permeabilidad al vapor de agua y espesor) varían en función de las concentraciones de proteína y sorbitol. Las propiedades de las películas a base de proteína de Sacha Inchi fueron comparables con películas de otras fuentes, en términos de color, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua. Se obtuvieron películas con baja permeabilidad y baja solubilidad, utilizando concentraciones de sorbitol y proteína comprendidos entre 1.4% - 1.8% y 8.2% - 9.3%, respectivamente. Estos resultados demostraron que las proteínas extraídas de la torta de Sacha Inchi tienen gran potencial como material formador de películas biodegradables/comestibles con propiedades adecuadas para su uso como envases y/o embalajes.

## REFERENCIAS

- Anker, M., *Edible and biodegradable whey protein films as barriers in foods and food packaging*, Doctoral Thesis, Swedish Food Institute, Sweden (2000)
- Anker, M., M. Stading y A.-M. Hermansson, *Effects of pH and the Gel State on the Mechanical Properties, Moisture Contents, and Glass Transition Temperatures of Whey Protein Films*, doi: 10.1021/jf981115d, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (en línea), 47(5), 1878-1886 (1999)
- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16<sup>th</sup>, Gaithersburg, USA (1998)
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM), *ASTM E96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*, West Conshohocken, USA (2000)
- Aydemir, L.Y., A. A. Gökbulut, Y. Baran y A. Yemencioğlu, *Bioactive, functional and edible film-forming properties of isolated hazelnut (Corylus avellana L.) meal proteins*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.09.014, *Food Hydrocolloids*, (en línea), 36, 130-142 (2014)
- Bamdad, F., A.H. Goli y M. Kadivar, *Preparation and characterization of proteinous film from lentil (Lens culinaris): Edible film from lentil (Lens culinaris)*, doi: 10.1016/j.foodres.2005.06.006, *Food Research International* (en línea), 39(1), 106-111 (2006)
- Belitz, H.D., W. Grosch y P. Schieberle, *Food Chemistry*, 4<sup>a</sup> Ed., 8-89, Springer, Heidelberg, Alemania (2009)
- Cao, N., X. Yang, y Y. Fu, *Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.017, *Food Hydrocolloids*, (en línea), 23(3), 729-735 (2009)
- Chambi, H. N. M., P.J.A. Sobral y otros cuatro autores, *Protein extracted from castor bean (Ricinus communis L.) cake in high pH results in films with improved physical properties*, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.07.009, *Industrial Crops and Products* (en línea) 61, 217-224 (2014)
- Chirinos, R., D. Campos y otros dos autores, *Optimized Methodology for Alkaline and Enzyme-Assisted Extraction of Protein from Sacha Inchi (Plukenetia volubilis) Kernel Cake*, doi: 10.1111/jfpe.12412, *Journal of Food Process Engineering*, (en línea) (2016)
- Ciannamea, E. M., P.M. Stefani y R.A. Ruseckaite, *Physical and mechanical properties of compression molded and solution casting soybean protein concentrate based films*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.013, *Food Hydrocolloids* (en línea), 38, 193-204 (2014)
- Damodaran, S., *Aminoacids, Peptides, and Proteins*, en Fennema's Food Chemistry por S. Damodaran, K. Parkin, O.R., Fennema, 217-329, CRC Press, Boca Raton, USA (2008)
- Denavi, G.A., M.C. Gómez-Guillén y otros cuatro autores, *Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.03.007, *Food Hydrocolloids* (en línea), 23(8), 2094-2101 (2009)

- Doyon, G., J.P. Arch y otros veinte autores, *B*, In *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology* by K. L. Yam (Ed.), pp. 71-180 John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, USA (2009)
- Gennadios, A., R.F. Testin y otros tres autores, *Water vapor permeability of wheat gluten and soy protein isolate films*, doi: 10.1016/0926-6690(94)90035-3, *Industrial Crops and Products* (en línea), 2(3), 189-195 (1994)
- Gounga, M. E., S.-Y Xu y Z. Wang, *Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.04.008, *Journal of Food Engineering*, (en línea), 83(4), 521-530 (2007)
- Hamaker, B.R., C. Valles y otros diez autores, *Amino acid and fatty acid profiles of the Inca peanut (*Plukenetia volubilis*)*, <https://goo.gl/YGw1iu>, ISSN: 0009-0352, *Cereal Chemistry*, 69(4), 461-463 (1992)
- Handa, A., M. A. Hanna y otros tres autores, *Tensile, solubility, and electrophoretic properties of egg white films as affected by surface sulfhydryl groups*, doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb09865.x, *Journal of Food Science* (en línea), 64(1), 82-85 (1999)
- Hendrix, K.M., S.C. Min y otros dos autores, *Defatted mustard seed meal-based biopolymer film development*. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.013>. *Food Hydrocolloids* (en línea), 26(1), 118-125 (2012)
- Jangchud, A. y M. S. Chinnan, *Properties of Peanut Protein Film: Sorption Isotherm and Plasticizer Effect*, doi: 10.1006/food.1998.0498, *LWT - Food Science and Technology* (en línea), 32(2), 89-94 (1999)
- Jastrzebski, Z. D. *The Nature and Properties of Engineering Materials*, 3<sup>a</sup> Ed., John Wiley & Sons, New York, USA (1987)
- Jiang, J., G.K. Rentfrow y otros dos autores, *Structure-modifying alkaline and acidic pH-shifting processes promote film formation of soy proteins*, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.12.030, *Food Chemistry* (en línea), 132(4), 1944-1950 (2012)
- Kokoszka, S., A. Voilley y otros tres autores, *Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films*, doi: 10.1016/j.ifset.2010.01.006, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (en línea), 11(3), 503-510 (2010)
- Kowalczyk, D. y B. Baraniak, *Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.02.037, *Journal of Food Engineering* (en línea), 105(2), 295-305 (2011)
- Lee, H. y S.C. Min, *Antimicrobial edible defatted soybean meal-based films incorporating the lactoperoxidase system*, doi: 10.1016/j.lwt.2013.05.012, *LWT - Food Science and Technology* (en línea), 54(1), 42-50 (2013)
- Leuangsukrer, M., T. Janjarasskul y otros tres autores, *Properties of konjac glucomannan-whey protein isolate blend films*, doi: 10.1016/j.lwt.2014.05.029, *LWT - Food Science and Technology* (en línea), 59(1), 94-100 (2014)
- Makishi, G.L.A., P.J.A. Sobral y otros seis autores, *Films based on castor bean (*Ricinus communis* L.) proteins crosslinked with glutaraldehyde and glyoxal*, doi: 10.1016/j.indcrop.2013.07.025, *Industrial Crops and Products* (en línea), 50, 375-382 (2013)
- Martelli, M.S., J.B. Laurindo y otros tres autores, *Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films*, doi: 10.1016/j.lwt.2004.12.014, *LWT - Food Science and Technology* (en línea), 39(3), 292-301 (2006)
- McHugh, T.H. y J.M. Krochta, *Milk-protein-based edible films and coatings*. Recuperado a partir de <https://goo.gl/NMBbFK>. *Food Technology* (en línea), 48(1), 97-103 (1994)

- Muñoz, L.A., J. M. Aguilera, y otros tres autores, *Characterization and microstructure of films made from mucilage of Salvia hispanica and whey protein concentrate*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.02.031, Journal of Food Engineering (en línea), 111(3), 511-518 (2012)
- Paschoalick, T.M., F.T. Garcia y otros dos autores, *Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia*, doi: 10.1016/S0268-005X(03)00031-6, Food Hydrocolloids (en línea), 17(4), 419-427 (2003)
- Pilla, S. *Engineering Applications of Bioplastics and Biocomposites – An Overview*, in Handbook of bioplastics and biocomposites engineering applications, by S. Pilla, pp. 1-15, Scrivener-Wiley, Salem, USA (2011)
- Rhim, J.W., A. Gennadios y otros tres autores, *Soy protein isolate-dialdehyde starch films*, doi: 10.1016/S0926-6690(98)00003-X, Industrial Crops and Products (en línea), 8(3), 195-203 (1998)
- Ruiz, C., C. Díaz y otros dos autores, *Análisis Proximal, Antinutrientes, Perfil de Ácidos Grasos y de Aminoácidos de Semillas y Tortas de 2 Especies de Sacha Inchi*, Revista de la Sociedad Química del Perú, ISSN: 1810-634X (en línea), 79, 29-36, 2013. <https://goo.gl/ceuB8K>. Acceso: 22 de Agosto (2016)
- Saetae, D., T. Kleekayai y otros dos autores, *Functional properties of protein isolate obtained from physic nut (Jatropha curcas L.) seed cake*, doi: 10.1007/s10068-011-0005-x, Food Science and Biotechnology, (en línea), 20(1), 29-37 (2011)
- Salgado, P. R. *Proteínas de girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria*, Tesis Doctoral, UNLP, La Plata, Argentina (2009)
- Salgado, P.R., A.N. Mauri y otros dos autores, *Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.12.002, Food Hydrocolloids (en línea), 24(5), 525-533 (2010)
- Sathe, S.K., B.R. Hamaker y otros dos autores, *Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from Inca peanut (Plukenetia volubilis L.)*, doi: 10.1021/jf020126a, Journal of Agricultural and Food Chemistry (en línea), 50(17), 4906-4908 (2002)
- Sathe, S.K., H.H. Kshirsagar y G.M. Sharma, *Solubilization, Fractionation, and Electrophoretic Characterization of Inca Peanut (Plukenetia volubilis L.) Proteins*, doi: 10.1007/s11130-012-0301-5, Plant Foods for Human Nutrition, (en línea), 67(3), 247-255 (2012)
- Schou, M., A. Longares y otros cuatro autores, *Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping*, doi: 10.1016/j.lwt.2004.08.009, LWT - Food Science and Technology (en línea), 38(6), 605-610 (2005)
- Sobral, P.J.A., J.S. dos Santos y F.T. García, *Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.09.015, Journal of Food Engineering (en línea), 70(1), 93-100 (2005)
- Sobral, P.J.A., F.C. Menegalli y otros dos autores, *Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films*, doi: 10.1016/S0268-005X(01)00061-3, Food Hydrocolloids (en línea), 15(4-6), 423-432 (2001)
- Vanin, F.M., P.J.A. Sobral y otros tres autores, *Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2004.12.003, Food Hydrocolloids (en línea), 19, 899-907 (2005)
- Yoshida, C.M.P., y A.J. Antunes, *Characterization of whey protein emulsion films*, doi: 10.1590/S0104-66322004000200014, Brazilian Journal of Chemical Engineering (en línea), 21, 247-252 (2004)