



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

CONCURSO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN PARA TESIS

A NIVEL DE PREGRADO 2015



**Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de la torta
desengrasada de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)**

Tesis Para optar por el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

AUTOR:

Christian Martín Pezo Cuñaña

ASESOR:

Ing. Dr. Oscar Wilfredo Mendieta Taboada

Tarapoto – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO
CONCURSO DE PROYECTOS DE INVESTIGACION PARA TESIS A
NIVEL DE PREGRADO 2018




**Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de la torta
desengrasada de sachá inchi (*Plukenetia volubilis L.*)**


AUTOR:


Christian Martín Pezo Cuñaña

**Sustentada y aprobada el día 05 de setiembre del 2018, ante el honorable
jurado:**


.....
Ing. Dr. Euler Navarro Pinedo
Presidente


.....
Ing. Nelson García Garay
Secretario


.....
Ing. Dr. Mari Luz Medina Vivanco
Miembro


.....
Ing. Dr. Oscar Wilfredo Mendieta Taboada
Asesor

Declaratoria de Autenticidad

Christian Martín Pezo Cuñaña, identificado con DNI N°71002380, bachiller de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la tesis titulada: **Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de la torta desengrasada de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)**

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
1. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto.

Tarapoto, 05 de setiembre del 2018.



.....
Bach. Christian Martín Pezo Cuñaña
DNI N° 71002380

Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	Pozo Cruzada Christiana María	
Código de alumno :	102123	Teléfono: 942456941
Correo electrónico :	christianpozo@gmail.com	DNI: 71002380

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de:	Ingeniería Agroindustrial
Escuela Profesional de:	Ingeniería Agroindustrial

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	()	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título:	Obtención y caracterización de un estado proteico a partir de la torta de semengrasada de Sacha incluí (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)
Año de publicación:	2018

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(X)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital.

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.



.....
Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

02 / 09 / 2019



.....
Firma del Responsable de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

** **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

Dedicatoria

A Dios quien en su infinita misericordia me concedió la vida y me guía por buen camino, quien siempre está allí en todos mis momentos, dándome las fuerzas para alcanzar lo que queda por delante y esperando con brazos abiertos para una gran bendición.

A mis padres Emerson y Gloria, como un pequeño gesto de agradecimiento por enseñarme siempre a seguir y nunca darme por vencido, a quienes honro y aprecio.

.

Agradecimiento

A Dios por guiar mi vida y darme la oportunidad de concluir exitosamente una meta más en mi vida.

A mis padres Emerson y Gloria por estar siempre a mi lado y ser la fuerza de mi inspiración por ser ejemplo de responsabilidad, perseverancia y compromiso social. A mi hermano Jhon Cilver.

A la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto por el financiamiento a través del Instituto de Investigación y Desarrollo según Resolución N° 213-2015-UNSM/CU-R/NLU.

A los docentes de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial por el apoyo que me han brindado en el transcurso de mi vida estudiantil y desarrollo personal.

Al Dr. Oscar Mendieta Taboada, mi orientador, por el apoyo y la confianza por sus conocimientos y apoyos como conocedor del tema.

Al Ing. Richer Garay Montes por su asesoramiento incondicional en el laboratorio de Investigación de la FIAI quien apoyó en la culminación de mi tesis.

Índice

	Pág.
Dedicatoria.....	vi
Agradecimiento.....	vii
Resumen	xiii
Abstract.....	xiv
Introducción.....	1
➤ Objetivos.....	2
Objetivo General:.....	2
Objetivos Específicos:	2
CAPÍTULO I	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. El sachá Inchi.....	3
1.2. Aislados Proteicos	6
1.3. Usos y aplicaciones de los aislados proteicos	7
1.4. Bases teóricas	7
1.4.1. Obtención de productos proteicos	7
1.4.2. Propiedades funcionales de las Proteínas	8
1.4.3. Métodos de concentración de proteínas.	10
1.4.3.1. Extracción alcalina/precipitación isoeléctrica	10
1.4.3.2. Extracción ácida	11
1.4.3.3. Extracción con sales (micelización)	12
1.4.3.4. Ultrafiltración	12
1.4.4. Obtención de aislados proteicos.	12
1.5. Desarrollo de otras investigaciones	13
CAPÍTULO II	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
2.1. Lugar de ejecución.....	15
2.2. Materia Prima	15
2.3. Materiales, equipos y reactivos	15

2.4. Métodos de análisis	16
2.5. Metodología experimental.....	16
2.5.1. Preparación de la muestra.....	16
2.5.2. Obtención del Aislado Proteico de Sacha Inchi	16
2.5.3. Caracterización del producto Obtenido	18
2.6. Diseño experimental.....	20
CAPÍTULO III	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1. Composición química y de la torta y Aislado Proteico de Sacha Inchi (APSI).....	23
3.2. Curva patrón de proteína	24
3.3. Comportamiento del rendimiento de extracción de proteína con respecto al pH.....	24
3.4. Determinación de los parámetros óptimos para la obtención del APSI	26
3.5. Propiedades Funcionales	30
CONCLUSIONES	37
RECOMENDACIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	47
Anexos A. Datos experimentales para obtener la curva patrón.....	48
Anexos B. Rendimiento óptimo en extracción del APSI en el proceso	49
Anexos C. Rendimiento de extracción del aislado proteico del sachá inchi (%)	50
Anexos D. Promedio de datos experimentales de las propiedades funcionales del APSI...	51
Anexos E. Torta despeletizada, tamizada y aislado propetico de sachá inchi	52
Anexos F. Vista de la obtención del aislado proteico de sachá inchi	53
Anexos G. Mayor rendimiento de APSI alcanzado a pH 12, relación 6/60 y tiempo de 30 minutos.	54

Índice de tablas

Tabla 1. Composición proximal (base seca) de semillas y torta de dos especies de sachá inchi.	5
Tabla 2. Factores y dominio experimental del estudio	21
Tabla 3. Diseño experimental rotatable con punto central con tres variables.	21
Tabla 4. Composición química de la torta de sachá inchi	23
Tabla 5. Composición química del aislado proteico de sachá inchi (APSI).....	25
Tabla 6. ANVA de los factores lineales y cuadráticos.....	41
Tabla 7. Capacidad de adsorción de aceite de APSI	46

Índice de figuras

Figura 1. Fruto de Sacha Inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.), (a), verde; (b) maduro (Proamazonía (s/a)	3
Figura 2. Potencial agroindustrial del sachá inchi (IIAP, 2009).....	4
Figura 3. Proceso de extracción de aceite sachá inchi (Chirinos et al., 2009).....	5
Figura 4. Perfil típico de solubilidad proteica en agua en función del pH del medio (Salgado, 2009)	8
Figura 5. Diagrama de flujo general del aislado proteico (Scopes, 1993).....	11

Abreviaturas

ANVA	Análisis de Varianza
APSI	Aislado Proteico de Sacha Inchi
DCC	Diseño Compuesto Central
CE	Capacidad Emulsificante
CRA	Capacidad de Retención de Agua
CAA	Capacidad de Absorción de Aceite
CFE	Capacidad de Formación de Espumas
EE	Estabilidad de Espuma
SPI	Aislado Proteico de Soya
CH	Capacidad de Hinchamiento
DA	Densidad Aparente

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar las condiciones adecuadas de extracción alcalina (pH, relación soluto/solvente y tiempo de proceso) para la obtención de aislado proteico de torta de sachá Inchi (APSI) por precipitación isoeléctrica, caracterización y propiedades funcionales. Las variables estudiadas para la extracción proteica fueron: el tiempo de agitación magnética (20, 25, 30, 35 y 40 minutos), relación soluto/solvente (8/60, 7/60, 6/60, 5/60 y 4/60 g/mL) y pH (8, 9, 10, 11 y 12). El aislado proteico de sachá inchi (APSI) fue obtenido a partir de torta de Sachá Inchi, proveniente del prensado en frío y peletizado adquirida de la empresa Shanantina S.A.C., ubicada en la provincia de Lamas, departamento de San Martín. El aislado proteico se obtuvo mediante la metodología de precipitación isoeléctrica de las proteínas con algunas modificaciones. El contenido de proteína en la torta de sachá inchi fue de 54.15%, del aislado proteico alcanzó 84.04%. Los parámetros óptimos fueron 30 minutos de tiempo de agitación, 6/60 relación soluto/solvente y pH 12. Las propiedades funcionales del APSI, alcanzaron valores de 84.4% de solubilidad, capacidad emulsificante (CE) 53.32%, capacidad de retención de agua (CRA) de 4.7 g agua/g APSI, capacidad de absorción de aceite (CAA) fue de 267.12%, la capacidad de formación de espumas alcanzó el punto más bajo en el pH 8 (49%), estabilidad de espuma (EE) a un pH 8 fue de 30%, finalmente la concentración mínima de gelificación alcanzó 13%.

Palabras Clave: precipitación isoeléctrica, propiedades funcionales, extracción alcalina.

Abstract

The objective of the following work was to determine the adequate conditions of alkaline extraction (pH, solute / solvent ratio and time of process) to obtain protein isolate from sacha inchi cake (APSI) by isoelectric precipitation, characterization and functional properties. The variables studied for protein extraction were: the magnetic stirring time (20, 25, 30, 35 and 40 minutes), solute / solvent ratio (8/60, 7/60, 6/60, 5/60 and 4 / 60 g / mL) and pH (8, 9, 10, 11, and 12). The sacha inchi protein isolate (APSI) was obtained from Sacha Inchi cake, obtained by cold pressing and pelleting acquired from Shanantina S.A.C., located in the province of Lamas, department of San Martín. The protein isolate was obtained by isoelectric precipitation of the proteins with some modifications. The protein content in the sacha inchi cake was 54.15%, the protein isolate reached 84.04%. The optimal parameters reached were 30 minutes of magnetic stirring time, 6/60 solute / solvent ratio and pH 12. The functional properties of the APSI, reached 84.4% solubility, emulsifying capacity (CE) 53.32%, water holding capacity (CRA) of 4.7 g water / g APSI, oil absorption capacity (AAC) was 267.12%, capacity Foam formation reached the lowest point at pH 8 (49%), foam stability (EE) at pH 8 (30%), finally at the minimum concentration of gelation reached 13%.

Keywords: isoelectric precipitation, functional properties, alkaline extraction.



Introducción

Las proteínas desempeñan un papel esencial en la alimentación humana por su aporte de aminoácidos a la dieta y por sus propiedades funcionales, las que confieren características específicas en los alimentos. Por la escasez de leguminosas y oleaginosas ricas en proteínas de calidad se ha visto la necesidad de suministros alternativos a partir de proteínas animales como componentes funcionales y bioactivos no solo en los alimentos, sino también en cosméticos y productos farmacéuticos (**Zivanovic et al., 2010; Chang et al., 2014**).

En general, las proteínas con mejores propiedades pertenecen a fuentes animales debido a que cumplen con los requerimientos nutricionales para humanos y presentan funcionalidades adecuadas pero debido al alto costo de estas, las proteínas vegetales son el principal componente dietario para gran parte de la población mundial. Así también, en los últimos años, han aumentado en la población mundial los casos de intolerancia a la leche y de alergia a productos animales, lo que resultó en un interés por dietas que no contengan proteínas animales (**Salcedo-Chávez et al., 2002**).

En la Región San Martín se ha notado desinterés por el estudio del Sacha Inchi, pero sabiendo que el contenido de proteínas de los granos de Sacha Inchi es de 33% (**Arévalo, 1989-1995 y Valles, 1990**), se considera necesario un estudio para saber las bondades y los beneficios que trae esta planta, a nivel experimental.

En tal sentido, esta investigación pretende establecer las condiciones adecuadas para la obtención del aislado proteico del Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), y de esta manera contribuir a la investigación y al uso de estos aislados proteicos en la alimentación, además de evitar la desnutrición en las personas, siendo de esta manera una alternativa de suma eficacia para la sociedad y la industria.

➤ **Objetivos**

Objetivo General:

- Determinar las condiciones adecuadas de extracción alcalina (pH, relación torta: solvente y tiempo de proceso) para la obtención de aislado proteico de torta de sachá inchi por precipitación isoeléctrica.

Objetivos Específicos:

- Determinar los parámetros óptimos (pH en el rango de 8 a 12, relación torta: solvente en el rango de 4/60 g/mL a 8/60 g/mL y tiempo de extracción en el rango de 20 a 40 minutos) para la obtención del aislado proteico de torta de sachá inchi obtenido por precipitación isoeléctrica.
- Realizar la caracterización proximal del aislado proteico obtenido.
- Determinar las propiedades funcionales (solubilidad, capacidad de retención de agua, absorción de aceite, capacidad emulsificante, formación de espumas y gelificación) del aislado proteico.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. El sachá Inchi

El género *Plukenetia* L. (Euphorbiaceae) está constituido por 19 especies, de las cuales 12 se encuentran en el neotrópico y las restantes en el viejo mundo. En el Perú se ha reconocido las especies *Plukenetia volubilis*, *P. brachybotrya*, *P. polyandenia*, *P. lorentensis* y, más recientemente, se ha descrito la nueva especie *P. huayllabambana*. (Rodríguez *et al.*, 2010 y Bussmann *et al.*, 2009)

La especie más cultivada en el Perú es *P. volubilis*, la cual crece entre los 30 a 2110 msnm en los departamentos de Amazonas, Cusco, Junín, Loreto, Pasco, San Martín y Madre de Dios. Esta especie es muy reconocida por sus semillas con alto contenido de proteínas, tocoferoles y aceite rico en ácidos grasos omega-3 y omega-6 (Hamaker *et al.*, 1992 y Fanali 2011). Luego de la extracción del aceite por medio de solventes o prensado queda un residuo ("torta") que es rico en proteínas de alto valor nutricional (Mondragón, 2009).



Figura 1. Fruto de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), (a), verde; (b) maduro (Proamazonía (s/a)

Según Valles (1990) el contenido de proteínas del Sacha Inchi es de 33%, y su perfil de aminoácidos, en algunos aspectos, es mejor que el de las otras semillas oleaginosas. Los niveles de leucina y lisina son más bajos que los de la proteína de la soya, aunque igual o mayor que los niveles de la proteína de maní, semilla de algodón o del girasol. El contenido de aminoácidos azufrados (metionina + cistina), tirosina, treonina y triptófano es mayor que en las otras oleaginosas.

Reportes de análisis realizados en la Universidad de Cornell (USA) indican que la almendra de las semillas contiene 48,6 % de aceite y 29,0 % de proteína; además se señala que el aceite de sacha inchi contiene un alto contenido de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico) por lo que se le considera como un aceite de bajo contenido de colesterol (**Hazen y Stoewesand, 1980**).

El potencial agroindustrial del sacha inchi se presenta en la Figura 2, en la cual se consideran diversas aplicaciones para el aceite y la torta, que en la forma de harina podría ser utilizada para la producción de aislados proteicos; mientras que en la Figura 3 se presenta el proceso de extracción de aceite.

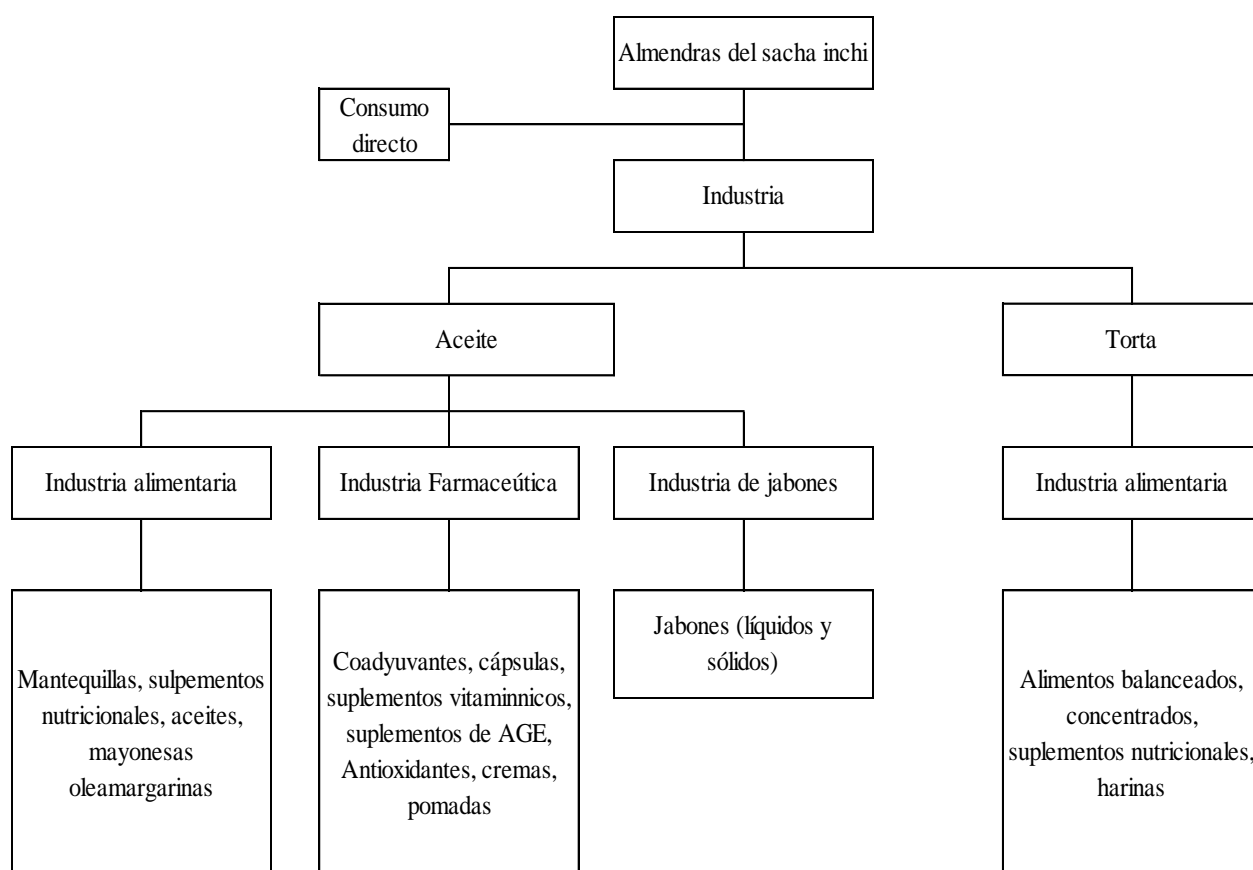


Figura 2. Potencial agroindustrial del sacha inchi (IIAP, 2009)

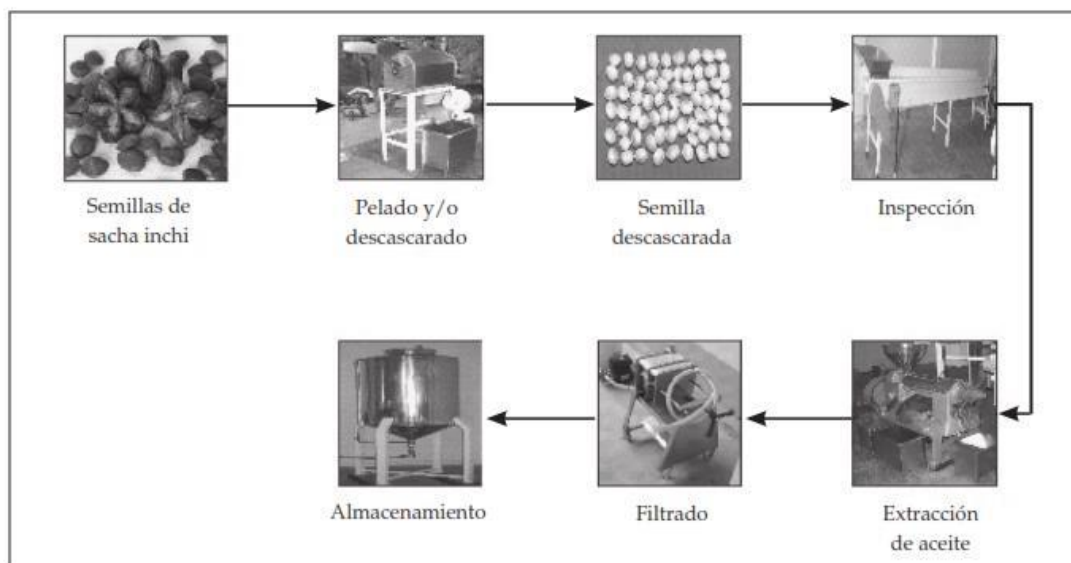


Figura 3. Proceso de extracción de aceite sachá inchi (Chirinos *et al.*, 2009)

En la tabla 1, se muestra la composición proximal en base seca de la semillas y torta de dos especies de a Sacha Inchi. Comparando el contenido de proteínas en la torta, la especie de *Plukenetia volubilis*, es mayor con 59.0% mientras que la *Plukenetia huallabambana* es menor con 46.1% (Ruíz *et al.*, 2013).

Tabla 1

Composición proximal (base seca) de semillas y torta de dos especies de sachá inchi.

Componente	<i>Plukenetia huallabambana</i>		<i>Plukenetia volubilis</i>	
	Semillas (AI-RM-05)	Torta (TRM)	Semillas (AI-RM-06)	Torta (TRM)
Grasa	54.3±1.0	9.7±0.5	49.0±1.0	7.8±0.2
Proteínas	24.5±1.2	46.1±1.1	29.6±0.5	59.0±0.7
Cenizas	3.8±0.4	6.0±0.1	2.7±0.2	4.8±0.2
Fibra	7.4±0.5	3.3±0.4	6.6±0.7	4.5±0.6
Carbohidratos	10.0±0.7	34.9±0.1	12.1±1.3	23.9±1.7

Fuente. Ruíz *et al.*, (2013)

1.2. Aislados Proteicos

La escasez de proteínas alimenticias es propicia para buscar fuentes no convencionales de proteínas para su uso como suministros alimenticios que contengan propiedades funcionales y suplementos nutricionales (**Onweluzo et al. 1995**).

El sacha Inchi contiene alto contenido de proteínas (27%); siendo rico en aminoácidos como la cistina, tirosina, treonina y triptófano (**Hamaker et al. 1992**) y pueden contener antinutrientes que es necesario eliminar (**Vidal-Valverde et al. 2002**); al obtener aislados proteicos mediante la extracción alcalina y precipitación isoeléctrica se logra eliminarlos (**Khalid et al. 2003**). Por otro lado, las proteínas de estas semillas deben poseer propiedades tecno-funcionales necesarias para su utilización con éxito en la industria alimentaria (**Aremu et al. 2007**).

Un aislado proteico es un material caracterizado por contener al menos el 90% de proteínas. Si se considera que las materias primas, a partir de las cuales se obtiene un aislado proteico, contienen una proporción mucho menor al 90% de proteínas, entonces el proceso de producción de un aislado proteínico consiste básicamente en una concentración y/o purificación de la proteína de la fuente hasta lograr un valor del 90% (**Ulloa et al., 2012**).

Los aislados proteicos pueden ser utilizados en la elaboración de diferentes productos en la industria alimentaria, tales como productos horneados, en la elaboración de bebidas para deportistas, de embutidos, para la preparación de alimentos para bebés, por mencionar algunos. Las proteínas se usan como aditivos en suplementos nutricionales para mejorar el perfil de aminoácidos e incrementar el contenido de proteínas, pero también para aportar beneficios funcionales como emulsificación, estabilización e incremento de viscosidad, mejoramiento de la apariencia, del gusto, la textura y la absorción de agua o aceite (**Giese, 1994**).

En este sentido, el estudio de las propiedades funcionales es muy importante para determinar los usos que pueden darse a las proteínas y aislados proteicos en la industria alimentaria. Básicamente, las propiedades funcionales son aquellas propiedades no nutricionales que son capaces de impartir una característica tecnológica específica deseable a un producto dado (**Cheftel et al., 1989**).

1.3. Usos y aplicaciones de los aislados proteicos

Actualmente los aislados proteicos más extendidos son los de soja, ya que ofrecen ventajas económicas, nutricionales y funcionales manteniendo las cualidades sensoriales deseables necesarias para la aceptación del consumidor (**Wagner *et al.*, 1990, Nagano *et al.*, 1996**).

Hoy en día existen una gran variedad de aislados de soja disponibles comercialmente, diseñados para proporcionar las características deseables según el alimento que se trate. La mayoría de las aplicaciones tienen lugar en alimentos tradicionales que ya tienen establecidos una serie de parámetros de utilización de calidad. Para tener éxito en estos productos los aislados deben mantener esa calidad. Esto quiere decir igual o similar color, sabor, aroma, textura y composición química y nutricional, estos requerimientos exigidos por el consumidor, determinan el grado de sustitución proteica. Por último las proteínas pueden ser modificadas químicamente, como por ejemplo mediante acilación para mejorar determinadas propiedades como la solubilidad (**Wanasundara *et al.*, 1997**) o mediante desamidación ácida para mejorar otras propiedades funcionales (**Mimouuni *et al.*, 1994**).

1.4. Bases teóricas

1.4.1. Obtención de productos proteicos

La obtención de productos enriquecidos en proteínas, concentrados o aislados, a partir de harina desgrasada tiene como objetivo principal la eliminación lo más completa y selectiva posible de los compuestos no proteicos presentes en ella (**Vioque *et al.*, 2001**).

Generalmente, estos procesos se basan en las diferencias en solubilidad que presentan las proteínas en función del pH del medio. Un perfil típico de solubilidad proteica en agua en función del pH se muestra en la Figura 4. Puede observarse que la solubilidad es máxima a valores de pH muy ácidos (pH=2-3) o muy alcalinos (pH=9-11).

En dichas zonas, las proteínas poseen carga neta positiva o negativa, respectivamente; y las fuerzas repulsivas son la causa del incremento en su solubilidad. También es posible observar un mínimo de solubilidad en las cercanías del pH isoeléctrico (pI)

(pH=4-5), en donde la carga neta de la proteína es cero, por lo que disminuye la repulsión electrostática lo que promueve la agregación (Salgado, 2009).

En la figura 4 se observa el perfil típico de solubilidad proteica en agua en función del

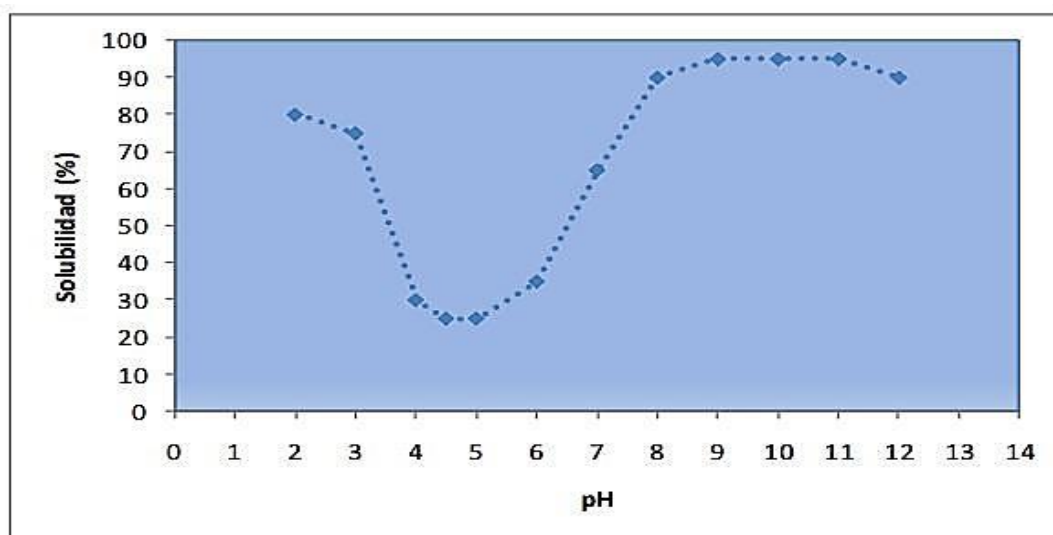


Figura 4. Perfil típico de solubilidad proteica en agua en función del pH del medio (Salgado, 2009)

1.4.2. Propiedades funcionales de las Proteínas

Las propiedades funcionales han sido definidas como cualquier propiedad fisicoquímica de las proteínas, que afecta el comportamiento y características de los alimentos en los cuales se encuentran o son agregadas y que contribuye a la calidad final del producto. Estas características pueden ser sensoriales, nutricias y bioquímicas. La aplicación práctica que una proteína puede tener depende en gran medida de esa funcionalidad, ya que dependiendo de ella se pueden emplear en diversos tipos de productos y a la vez juega un papel importante en la aceptación por parte del consumidor. Pueden agruparse en tres grupos (Fennema, 1996; Damodaran, 1997):

- Propiedades de hidratación, que dependen principalmente de la interacción proteína-agua y son aquellas como la sorción de agua, absorción y retención de agua, solubilidad, dispersabilidad y viscosidad.

- Propiedades que dependen de la interacción proteína-proteína y son aquellas como la gelificación, coagulación, elasticidad, cohesividad, dureza y adhesividad.
 - Propiedades de superficie, que dependen de la interacción de la proteína con dos fases inmiscibles: agua / aceite, agua / aire que son la emulsificación, espumado, formación de película lipoproteínica, capaz de enlazar lípidos.
- a. La solubilidad de la proteína se define termodinámicamente como la concentración de proteína en el disolvente en estado de equilibrio en un sistema de una o dos fases, a una temperatura y presión dadas. Para que esto ocurra se requiere de un estado inicial sólido bien definido y un estado de solución final.
 - b. La emulsión es definida como la dispersión o suspensión de dos líquidos inmiscibles, en la cual intervienen fuerzas de atracción, fuerzas de repulsión, fuerzas "estéricas" y fuerzas de agotamiento.
 - c. La espuma se define como un sistema coloidal bifásico donde las burbujas de gas (aire o CO₂) constituyen la fase dispersa gaseosa que está rodeada de una fase continua de líquido. En este esquema hay dos distintas fases, la efectividad de la encapsulación del gas (capacidad espumante) y la vida media de duración de la espuma (estabilidad de la espuma).
 - d. La capacidad de absorción de agua indica la aptitud a embeber agua en su estructura en forma espontánea, cuando se le pone en contacto con agua a través de una superficie que se mantiene húmeda o por inmersión.
 - e. La capacidad de retención de agua es la aptitud de un material hidratado a retener agua frente a la acción de una fuerza externa de gravedad centrífuga o de compresión y comprende la suma del agua enlazada, agua hidrodinámica y agua físicamente atrapada, siendo ésta la que contribuye en mayor proporción que las otras dos.
 - f. La viscosidad puede ser definida como la resistencia al flujo que una capa de un material presenta al deslizarse sobre otra, su comportamiento puede ser descrito según la ley de newton o no (newtoniano o no newtoniano) y generalmente las proteínas se comportan como fluidos newtonianos solamente en bajas concentraciones, siendo el caso más común el comportamiento pseudoplástico.
 - g. La gelificación es la formación de una red tridimensional que embebe al disolvente y lo inmoviliza, exhibiendo propiedades microestructurales y mecánicas muy diversas y esta red se forma a través de enlaces covalentes y no

covalentes. El gel se considera como una fase intermedia entre un sólido y un líquido (Fennema, 1996; Damodaran, 1997):

1.4.3. Métodos de concentración de proteínas.

Según Scopes (1993), existen los siguientes métodos de concentración de proteínas:

1.4.3.1. Extracción alcalina/precipitación isoelectrica

Este proceso se realiza a través de la extracción alcalina seguido de una precipitación isoelectrica, método en el que se aprovecha la solubilidad de las proteínas la cual es alta a pH alcalinos y baja valores cercanos al punto isoelectrico.

Generalmente, las semillas son descascaradas, pulverizadas y de la harina se elimina la grasa en forma de aceite. Posteriormente, se dispersa en agua ajustando a pH alcalinos (8-11), para mover la solubilización de las proteínas y separarlas del resto de los compuestos no solubles.

La dispersión es mezclada por un tiempo de 30 a 180 min y enseguida filtrada para remover el material insoluble y ajustar al pI, en este punto la carga neta de la proteína es cero, las repulsiones electrostáticas son mínimas y como consecuencia se obtienen agregados debido a la presencia de las interacciones hidrofóbicas. La solubilidad de las proteínas cambia de acuerdo a las características del disolvente (agua), ocasionando la precipitación de las proteínas.

El mecanismo empleado para explicar este fenómeno ocurre en cuatro pasos:

- Primero, se altera la solución proteica por la adición de un agente precipitante.
- Segundo, aparece la fase sólida como pequeñas partículas (primarias) esféricas de proteína sólida.
- Tercero, las partículas primarias forman agregados (flocs).
- Finalmente, el tamaño de los agregados es afectado por el desorden hidrodinámico, que genera partículas suaves y uniformes.

En la figura 05 se observa el diagrama de flujo del aislado de proteína (Scopes, 1993).

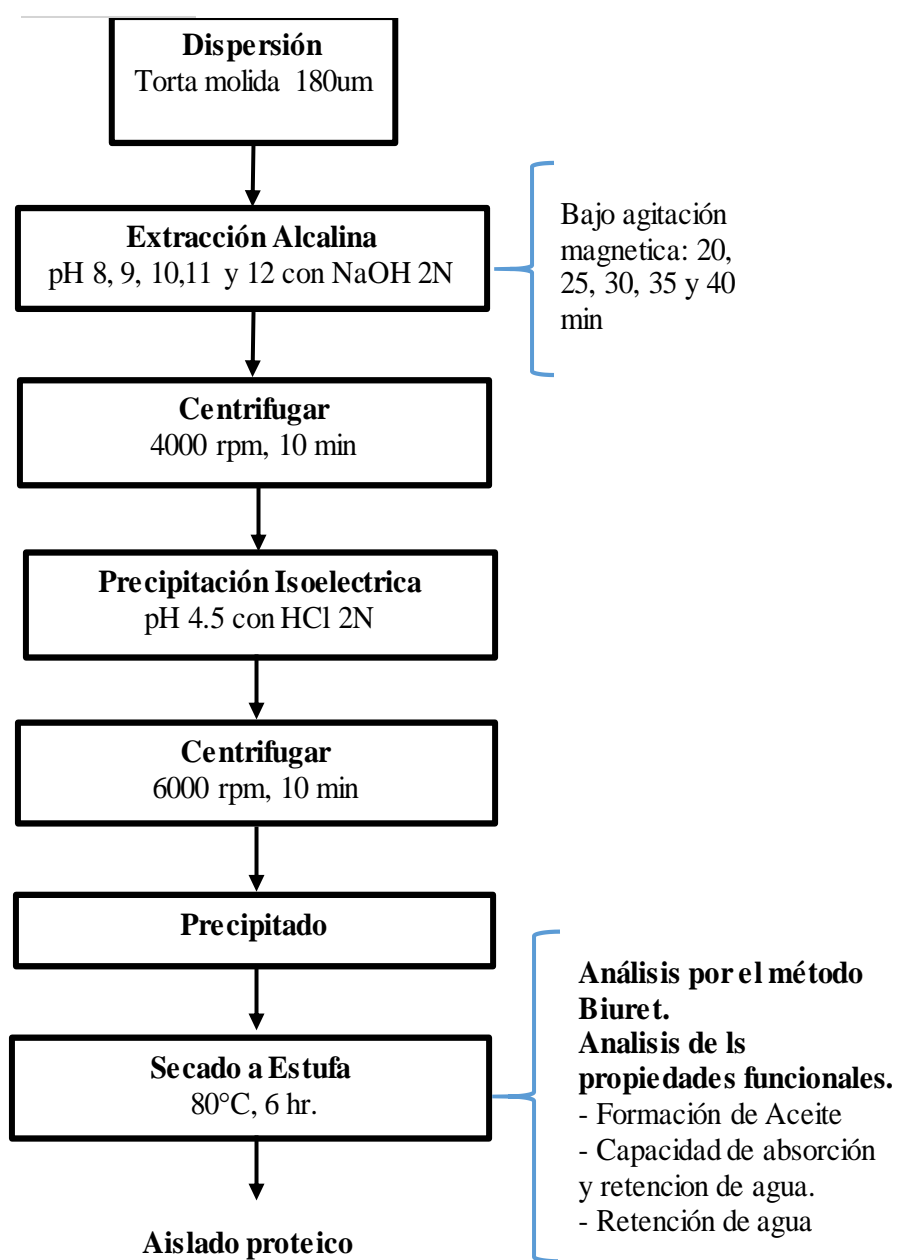


Figura 5. Diagrama de flujo general del aislado proteico (Scopes, 1993)

1.4.3.2. Extracción ácida

El principio de la extracción ácida es similar a la alcalina excepto que la extracción inicial se realiza en condiciones ácidas ($\text{pH} < 4$) estos valores de pH se usan para solubilizar proteínas antes de la precipitación isoelectrica, crio-precipitación o separación por membranas (Boye *et al.*, 2010).

1.4.3.3. Extracción con sales (micelización)

Este proceso, involucra la precipitación de las proteínas con una solución acida diluida y posteriormente la recuperación se realiza por centrifugación o filtración seguido de un secado (**Boye *et al.*, 2010**).

1.4.3.4. Ultrafiltración

El uso de membranas promueve la separación de moléculas en solución; en este proceso el sobrenadante obtenido después de la extracción alcalina sujeto a ultrafiltración o ultrafiltración/diafiltración para concentrar las proteínas; los compuestos comúnmente retenidos son las partículas coloidales, biomoléculas, polímeros y algunos azúcares (**Cassini *et al.*, 2010**). La principal ventaja de este método es la recuperación tanto de las proteínas solubles como insolubles (**Vioque *et al.*, 2001**).

1.4.4. Obtención de aislados proteicos.

La metodología tradicional de extracción alcalina y precipitación isoelectrica es la elegida por diversos autores para la obtención de aislados proteicos de amaranto (**Paredes-López *et al.*, 1988; Martínez y Añón, 1996; Salcedo-Chávez *et al.*, 2002**). Se extrajeron aislados mediante precipitación isoelectrica de las proteínas (**Rodríguez-Ambríz *et al.*, 2005**) con algunas modificaciones, teniendo en cuenta que es el método más usado en la extracción y aislamiento de proteínas.

El proceso consistió en suspender una cantidad de harina desgrasada de *Lupinus* en 10 porciones de agua (p/v), se ajustó el pH a 9 con NaOH 0,1N. Se agitó a 700 rpm a temperatura ambiente durante 30 min, luego se centrifugó a 5000 rpm por 15 min en una centrífuga Beckman Coulter modelo J2-MC. Después el sobrenadante se filtró en papel Watman No. 1 y el retenido se eliminó. Posteriormente, el sobrenadante se enfrió a 4°C y se ajustó al punto isoelectrico (pI), el cual se determinó a través de la medición de pH de la muestra de cada especie al que ocurrió la máxima precipitación de proteínas después de la adición de HCl 0,1N (**Pedroche *et al.*, 2004**). Enseguida se centrifugó (10000 rpm, 10 min, 4°C) y el aislado formado se congeló a -35 °C en un ultracongelador Revco modelo ULT.1340-3a e inmediatamente se liofilizó (Liofilizadora Labconco, Vacío 3,0 Pa, -35 °C) (**Porras, 2010**).

Según **Paredes-López et al., (1998)** el mayor rendimiento posible para la producción de aislados proteicos de amaranto (*A. hypochondriacus*) se obtiene cuando se emplea pH 11,0 para la extracción y pH entre 4,5 y 5,0 para la precipitación.

Salcedo-Chávez et al., (2002) optimizaron el proceso de precipitación isoelectrica para la producción de aislados proteicos de *Amaranthus cruentus* empleando diferentes valores de pH de extracción y precipitación y analizando los aislados resultantes en cuanto a su contenido proteico, temperatura y entalpía de desnaturalización, así como un índice de color como criterios de optimización.

1.5. Desarrollo de otras investigaciones

Fasanando et al., (2010) en la investigación Obtención y Caracterización de un Aislado Proteico a partir de Torta Desengrasada de Piñón Blanco (*Jatropha curcas* L.) determinó el efecto de las variables relación torta/solución extractora (1/5, 1/10 y 1/15), pH (9, 10 y 11) y tiempo de proceso (30, 60 y 90 minutos) sobre el rendimiento de extracción de las proteínas presentes en la torta desengrasada de piñón blanco, se realizaron ensayos a nivel laboratorio empleando un diseño compuesto central, siendo los resultados analizados empleando metodología de superficie de respuesta. La torta utilizada, desengrasada por el método Soxhlet, fue suspendida en solución de hidróxido de sodio con la finalidad de extraer las proteínas. La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Biuret con lectura en espectrofotómetro a 545 nm. La proteína, precipitada con ácido clorhídrico fue lavada con agua destilada y finalmente secada. El secado del aislado proteico se llevó a cabo en estufa, a 80°C, durante 6 horas. Los resultados indicaron que los parámetros: relación torta/solución extractora de 1/5, pH 10 y tiempo de 30 minutos, fueron los más adecuados para alcanzar un buen rendimiento. Los análisis realizados a los aislados proteicos obtenidos con estos parámetros, presentaron resultados similares a los reportados en otros estudios realizados con diferentes materias primas vegetales.

Mercado et al., (2015) obtuvieron un aislado proteico de torta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y evaluaron sus propiedades tecno-funcionales. El aislado proteico de sachá inchi (APSI) fue obtenido usando el método de extracción alcalina y precipitación isoelectrica. Las variables estudiadas para la extracción proteica fueron: harina desengrasada/solvente, pH, temperatura y tiempo. Los valores de las variables con los que

se obtuvo una máxima solubilización fueron: 1:30, 11, 50°C y 60 min, respectivamente. Las proteínas solubles fueron precipitadas en su punto isoeléctrico (pH 6), lavadas, ajustadas a pH 7 y secadas por atomización. Las propiedades tecno-funcionales del APSI que manifestaron valores más elevadas respecto al aislado proteico de soya (APS) fueron: Solubilidad (máxima a 99,4% a pH 11 y mínima a 18,7% a pH 6), Capacidad de Absorción de Aceite (1,39 g aceite/g aislado proteico), Capacidad de Formación de Espuma (55% a 1% concentración de aislado proteico y pH 8) y la Estabilidad de Espuma (33,7% a 1% de concentración de aislado proteico a pH 8 y 120 min), capacidad de Emulsificación (59,1%). Las propiedades tecno-funcionales con valores bajos fueron: Capacidad de Retención de Agua (1,84 g agua/g aislado proteico) y Capacidad de Gelificación (15%).

Vioque *et al.*, (2001) en su investigación de obtención y caracterización de aislados proteicos de colza diseñaron un proceso de obtención de aislados proteicos a partir de harina de colza desengrasada. El método incluyó la extracción básica de las proteínas solubles seguido de una precipitación ácida en el punto isoeléctrico. El precipitado es lavado con agua (pH 4.5), etanol y acetona, obteniéndose un aislado proteico con un 86% de proteína y reduciéndose el contenido en polifenoles y azúcares solubles en más de un 90% respecto a la harina desengrasada. El aislado final presentó unas características fisicoquímicas que lo hacen atractivo para su uso en alimentación y obtención de hidrolizados proteicos.

Martinez *et al.*, (2011) en el estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis f*), determinaron las propiedades funcionales de la harina y aislados proteicos de semillas de maracuyá. Los aislados proteicos fueron obtenidos de la harina desengrasada por solubilización alcalina a diferentes concentraciones de NaCl seguidas de precipitación isoeléctrica, con un contenido proteico cercano al 90 %. Se evaluaron las distintas propiedades funcionales como; capacidad de retención de agua (CRA), absorción de grasa (CRL), capacidad de hinchamiento (CH), densidad aparente (DA), actividades emulsificantes (AE) en el rango de pH 2-10 y capacidad espumante (CE). El incremento de la concentración de NaCl contribuye a exponer más grupos hidrófilos en la superficie, lo que explica la alta CRA y baja CRL, las propiedades de emulsión fueron dependientes del pH y concentración de NaCl. Una alta capacidad espumante y estabilidad de la espuma formada fue observada para los aislados obtenidos.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de: Investigación, Control de Calidad e Ingeniería y Diseño de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la UNSM-T, Ciudad Universitaria, Morales, Provincia y Región San Martín.

2.2. Materia Prima

La torta de Sacha Inchi, del ecotipo Apangurayacu, obtenida mediante extracción del aceite por prensado en frío y peletizada fue adquirida de la empresa Shanantina S.A.C., ubicada en la provincia de Lamas, región de San Martín.

2.3. Materiales, equipos y reactivos

2.3.1. Materiales

- Set de Tamizadores ASTM
- Vasos de Precipitado.
- Placas de Petri de 60 mm de diámetro.
- Pipetas de 100-1000 μ L (Marca BOECO Modelo SP)
- Pipeta Transferpette de 0,5 – 5 ml (Marca BRAND)
- Fiolas
- Probetas.
- Campanas de vidrio.

2.3.2. Equipos

- Centrífuga (Marca BOECO Modelo C-28A)
- Molino de discos (Marca Qingdao Dahua Modelo FFC-23)
- Agitador magnético (Marca CAT Modelo M5)
- Estufa y Secador convectivo (Marca POL-EKO Modelo SLW115STD)
- Balanza Analítica de precisión (Marca AND Modelo GH-200)
- Potenciómetro (Marca Metrohm Modelo 827 pH lab)
- Baño María con Agitador (Marca MEMMERT)
- Espectrofotómetro UV-VIS (Marca THERMO SPECTRONIC Modelo GENESIS 6)
- Liofilizador (Marca LABCONCO Modelo FreeZone 6 Plus)

2.3.3. Reactivos

- Éter de Petróleo (Marca Spetrum CAS 8032-32-4)
- Hidróxido de Sodio (Marca MERCK MILLIPORE CAS 1310-73-2)
- Ácido Clorhídrico (CAS 7467-01-0)
- Albúmina de suero bovino (BSA) (Himedia - Laboratories).
- Hidróxido de sodio (Merck).
- Sílica Gel Indicador Azul 6-16 mesh (Marca SPECTRUM CAS 1393-98-2)
- Dodecil Sulfato de Sodio

2.4. Métodos de análisis

2.4.1. Análisis proximal para la Torta y el Aislado Proteico de Sacha Inchi.

- Determinación de ceniza (A.O.A.C. 923.03 – 1998).
- Determinación de fibra (A.O.A.C. 962.09 – 1998).
- Determinación de grasa (A.O.A.C. 920.39 – 1998).
- Determinación de humedad (A.O.A.C. 935.29 – 1998).
- Determinación de proteína (A.O.A.C. 991.20 – 1998).
- Determinación de carbohidratos (por diferencia).

2.5. Metodología experimental

2.5.1. Preparación de la muestra

Se utilizó la metodología descrita por **Fasanando (2012)**. La materia prima ya desengrasada por extracción en frío a 60°C y peletizada se trituró en un molino de martillo, luego se tamizó la torta hasta un tamaño de partícula de 180 µm (Anexo E), la harina permaneció en un desecador hasta su uso. Una vez obtenida la harina de torta de sachá inchi se realizó el proceso de caracterización de la torta (grasas, humedad, fibra, ceniza).

2.5.2. Obtención del Aislado Proteico de Sacha Inchi

Se utilizó el método descrito por **Fasanando (2012)** con algunas modificaciones. El proceso consistió en suspender 30 gr. de harina desengrasada de sachá inchi en una porción de agua, manteniendo las relaciones peso de torta/volumen de agua en los valores: 8/60, 7/60, 6/60, 5/60 y 4/60(p/v), se ajustó el pH a 8, 9, 10, 11

y 12 con NaOH 2N, bajo agitación a tiempos diferentes 20, 25, 30, 35 y 40 min. Se colocó en una centrifuga a 6000 rpm por 10 min para eliminar algunas partículas groseras, (Anexo F). Posteriormente, el sobrenadante se enfrió a 4°C y se ajustó al punto isoeléctrico (pI), el cual se tuvo que determinar a través de la medición de pH de la muestra después de la adición de HCl 2N. Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 20 min, luego se centrifugó a 6000 RPM por 10 min. La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Biuret con lectura en espectrofotómetro a 545 nm (Porrás, 2010). La proteína, precipitada con ácido clorhídrico, fue lavada con agua destilada y finalmente secada por liofilización (Presión 5 Pa, temperatura colector a 82°C y durante 14 horas).

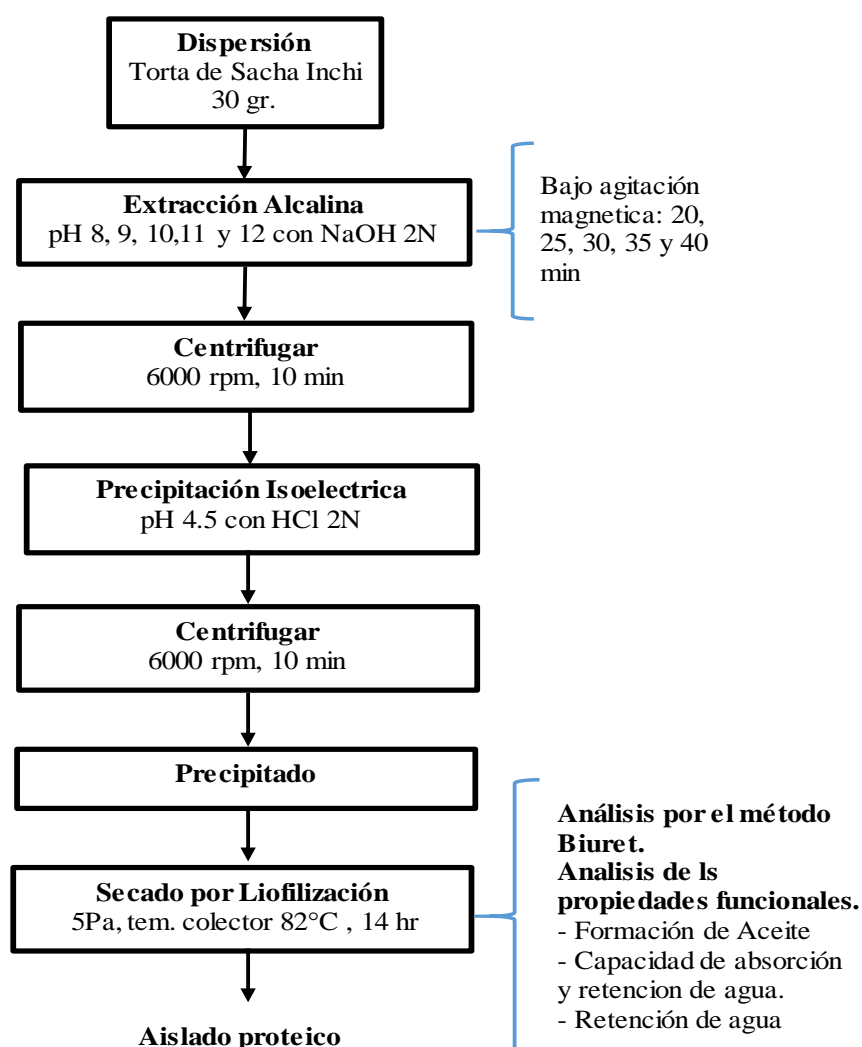


Figura 6. Diagrama de flujo del proceso experimental para la obtención del aislado proteico de torta de sachá inchi desengrasada.

2.5.3. Caracterización del producto Obtenido

2.5.3.1. Solubilidad en agua

Se analizó la solubilidad del aislado proteico de Sacha Inchi (APSI) en el pH donde se concentró la mayor cantidad de proteína, se preparó una dispersión al 0.1% de APSI en agua destilada, agitación continua durante treinta minutos. Después se procedió a centrifugar (6000 rpm, 10min) (**Ogunwolu et al., 2009**).

Se midió el pH de la suspensión obtenida y se mantuvo con agitación constante por un período de una hora. Se agregó NaOH (2N) o HCl (2N) para ajustar el pH hasta un valor deseado, se registró el volumen de solución agregado, se mantuvo con agitación durante treinta minutos y se verificó el pH. Se extrajo un volumen de dispersión que fue registrado. La dispersión se centrifugó a 6000 RPM durante 15 minutos. Enseguida, la muestra inicial se diluyó en concentraciones conocidas y eliminar fue llevado a lectura en el espectrofotómetro a 545 nm., con reactivo de Biuret (**Fasanando, 2012**).

El porcentaje de solubilidad del aislado se determinó con la ecuación:

$$\text{solubilidad} = \frac{\text{Proteina en el sobrenadante}}{\text{Contenido total de proteina}} \times 100$$

2.5.3.2. Capacidad de Retención de Agua (WHC) y Aceite (CAO)

Para determinar la capacidad de absorción, se pesaron 0.5 g de APSI y se mezclaron con 5 mL de agua destilada o aceite de girasol extra virgen respectivamente en un tubo para dispersión proteica, se centrifugándose de 2000 RPM por 25 minutos (**Rodriguez-Ambriz et al., 2005**). Posteriormente el sobrenadante se retiró y se midió, el líquido retenido se expresó como mL de agua o aceite absorbidos por gramo de aislado proteico (**Ogunwolu, et al., 2009**).

$$CAW = \frac{\text{mL de agua absorbidos}}{\text{g de aislado de proteina}}$$

$$CAO = \frac{\text{mL de aceite absorbidos}}{\text{g de aislado de proteina}}$$

2.5.3.3. Propiedades de Emulsión

El índice de actividad de emulsión (IAE) se estableció usando el método empleado por **Zheng *et al.*, (2008)** con algunas modificaciones. Se mezclaron 10 mg de APSI con 10 mL de agua destilada, a esta dispersión se le adicionó 3.33 mL de aceite de girasol extra virgen y el pH se ajustó en un intervalo de 2 a 10. Posteriormente la mezcla se homogenizó en un mezclador Thermolyne Corporation modelo M16715 a velocidad máxima durante 1 min. De la emulsión formada se tomó una alícuota de 50 μ L y se mezcló con 5 mL de una solución de Dodecil Sulfato de Sodio al 0.1%. La absorbancia de la dilución se midió a 500 nm en espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda XL5. Para calcular el IAE se resolvió la siguiente Ecuación.

$$IAE\left(\frac{m^2}{g}\right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times DF}{c \times \emptyset \times 1 - \theta}$$

Donde:

A_0 = Absorción al minuto cero

DF = Factor de dilución (100)

c = Concentración inicial de proteína (0.1 g/100 mL),

\emptyset = Trayectoria óptica (0.01 m)

1 = Fracción total de la mezcla.

θ = Fracción de aceite residual usada para formar la emulsión (0.25).

Para determinar el índice de estabilidad de emulsión (IEE) se midió la absorbancia a 500 nm después de 10 min de reposo, para calcularlo se empleó la siguiente ecuación.

$$IEE(\text{min}) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10$$

Donde A_0 es la absorbancia al minuto cero y A_{10} es la absorbancia al minuto 10 (**Zheng *et al.*, 2008**).

2.5.3.4. Capacidad de Formación de Espuma (CFE) y Estabilidad de Espuma (EE).

Estas propiedades se evaluaron en dispersiones de 50 mL de agua destilada con 1% p/v de APSI, se ajustaron a pH 8, 9, 10, 11 y 12 y se homogenizaron con un agitador Osterizer durante 1 min, con la capacidad de formación de espuma (FE), se calculó el porcentaje de volumen de la dispersión sobre el mezclado (Ecuación FE) (Chew *et al.*, 2003). Para determinar el índice de estabilidad de espuma (EE), se mantuvo en reposo la espuma y se midió el volumen después de 30 min (Ecuación EE) (Khatab *et al.*, 2009).

$$FE(\%) = \frac{(V_{DH} - V_{AH})ml}{V_{AH} ml}$$

$$EE(\%) = \frac{(V_{DR} - V_{AH})ml}{V_{AH} ml}$$

Donde

V_{DH} = Volumen después del homogenizado

V_{AH} = Volumen antes del homogenizado

V_{DR} = Volumen después del reposo.

2.5.3.5. Concentración Mínima de Gelificación (CMG)

Fue realizado a dispersiones de aislado al 5%, 7.5%, 9.0%, 10.0%, 11.0% y 12.50%) en 5 mL de regulador de fosfato pH 7.6. Cada uno de los tubos que contenían las dispersiones fue mantenido por una hora en baño maría (94°C), en seguida se enfriaron a 4°C y después se conservaron por dos horas en refrigeración. La Concentración Mínima de Gelificación (CMG) corresponde a aquella utilizada que no resbala por la pared del tubo (Rodríguez – Ambriz *et al.*, 2005).

2.6. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental rotatable con punto central con tres variables (tiempo de agitación magnética, relación soluto/solvente y pH) a tres niveles $2^3(2x2x2)$, con dos puntos axiales por 3 variables o factores $(3x2)$, con seis repeticiones en el punto central. Los tratamientos del estudio y la matriz de experimentos se presentan en las Tablas 2 y 3. Los análisis e interpretación de los datos de los tratamientos

experimentales se determinaron con el ANOVA a un nivel de significancia de 5%. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Statistica V 10.

El factor de conversión utilizado tanto para la harina de sachá inchi como para el aislado proteico fue 6.25 (Schmidt-Hebbel, 1992).

En la Tabla 2, muestra el diseño central compuesto con las 20 combinaciones de las tres variables independientes con 3 niveles (-1, 0, +1) y puntos axiales $-\alpha$ y $+\alpha$.

Tabla 2

Factores y dominio experimental del estudio

Factores	Dominio Experimental				
	$-\alpha$	-1	0	1	α
X ₁ : Tiempo de Agitación Magnética	20	25	30	35	40
X ₂ : relación soluto/solvente	4/60	5/60	6/60	7/60	8/60
X ₃ : pH	8	9	10	11	12

Tabla 3

Diseño experimental rotatable con punto central con tres variables.

Punto de diseño	X ₁	X ₂	X ₃	Respuesta
1	25(-1)	7/60(1)	9(-1)	(Y1)
2	35(1)	7/60(1)	9(-1)	(Y2)
3	25(-1)	5/60(-1)	9(-1)	(Y3)
4	35(1)	5/60(-1)	9(-1)	(Y4)
5	25(-1)	7/60(1)	11(1)	(Y5)
6	35(1)	7/60(1)	11(1)	(Y6)
7	25(-1)	5/60(-1)	11(1)	(Y7)
8	35(1)	5/60(-1)	11(1)	(Y8)
9	20(- α)	6/60(0)	10(0)	(Y9)
10	40(α)	6/60 (0)	10(0)	(Y10)
11	30(0)	8/60 (α)	10(0)	(Y11)
12	30(0)	4/60 (- α)	10(0)	(Y12)
13	30(0)	6/60(0)	8(- α)	(Y13)
14	30(0)	6/60(0)	12(α)	(Y14)
15	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y15)
16	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y16)
17	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y17)
18	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y18)
19	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y19)
20	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y20)

tiempo (min); X₂= relación soluto/solvente; X₃= pH

X₁=

Las interacciones entre los diferentes factores, y su efecto sobre el rendimiento de aislado proteico, fueron evaluadas mediante Análisis de varianza, además se realizó el análisis químico comparativo entre el aislado proteico y la semilla del sachá inchi.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición química de la torta y Aislado Proteico de Sacha Inchi (APSI)

El contenido de proteína en la torta de Sacha Inchi utilizada fue de 54.15% y el contenido de lípidos fue de 6.35%. **Rawdkuen *et al.*, (2016)** reportaron que el contenido de proteína en la torta de sachá inchi es del 62.07%, siendo este valor superior a lo indicado por los autores **González (2016)**, que trabajó con el ecotipo Apangurayacu al igual que en este trabajo, y **Mercado *et al.*, (2015)** que utilizaron el ecotipo Pinto Recodo. Se observa en la Tabla 4, que no hay diferencia significativa en composición química con lo reportado por **González (2016)**. **Mercado *et al.*, (2015)** encontró que el contenido lipídico es de $18.22 \pm 0.09\%$, siendo mayor que el valor determinado en este trabajo. Debido al bajo contenido de grasa en la torta de sachá inchi, además de evitar tratamientos que puedan afectar las propiedades funcionales de las proteínas, se procedió a obviar la etapa de desengrasado empleando solventes orgánicos y efectuar directamente la extracción de proteínas con NaOH 2N.

Tabla 4

Composición química de la torta de sachá inchi

Componente	Datos experimentales	González 2016	Mercado <i>et al.</i> , 2015
Humedad	8.89±0.05	9,51±0,19	12.36±0.03
Proteína	54.15±0.31	53,92±0,76	47.09±0.45
Grasa	6.35±0.42	5,59±0,42	18.22±0.09
Ceniza	5.50±0.18	4,97±0,01	5.32±0.08
Fibra cruda y Carbohidratos Disponibles	25.11±0.11	26,01±1.95	17.01±0.41

Estos resultados manifiestan que la torta del sachá inchi es una fuente rica en proteínas, y que su extracción es un aporte importante en la dieta alimentaria, corroborando lo descrito por **Chirinos *et al.*, (2009)**. Las condiciones edafoclimáticas reinantes en las zonas donde se recolectaron las semillas, además de las condiciones de almacenamiento y postcosecha contribuyen a las diferencias reportados en esta investigación (**Pascual y Mejía, 2000; Gutiérrez *et al.*, 2011**).

3.2. Curva patrón de proteína

La curva patrón de proteína se presenta en la Figura 7. Se observa un buen grado de ajuste entre los valores experimentales (Anexo A) y la recta generada, lo cual se refleja en el valor del coeficiente de determinación (R^2), esto corrobora lo indicado por **Gómez (2007)**, quien menciona que la proporción de la varianza de la variable “y” es explicada por su relación lineal con la variable “x”, y será 1 cuando la relación entre las dos variables sea perfecta ($r = +1$); presentando la curva patrón de este estudio un coeficiente de determinación, R^2 , cercano a la unidad ($R^2 = 0.9852$), lo cual indica que los valores experimentales de concentración de proteína tendrán alta confiabilidad.

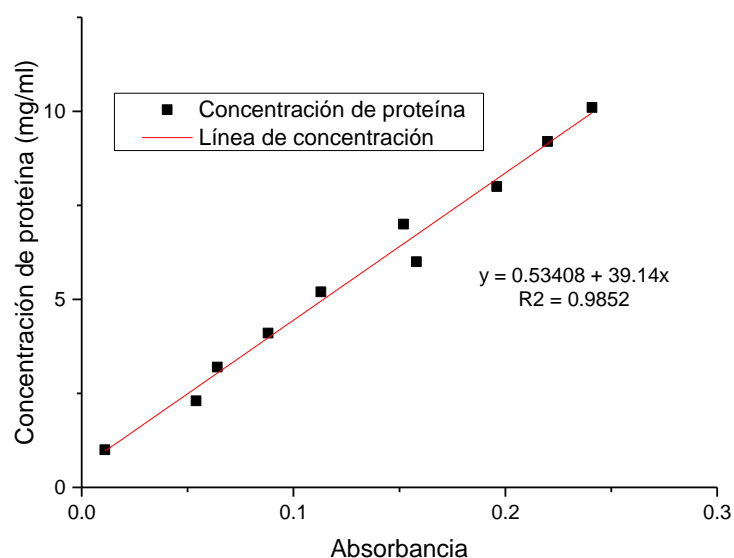


Figura 7. Curva patrón de proteína de albúmina de suero bovino

3.3. Comportamiento del rendimiento de extracción de proteína con respecto al pH.

En la Figura 8, se muestra el comportamiento del rendimiento de extracción de proteína solubilizada de la torta de Sacha Inchi (TSI) con respecto al pH e indica que a medida que aumenta el pH se incrementa el rendimiento de extracción. Puede verse que a pH 12 se alcanzó el máximo rendimiento de 84.04 ± 2.56 y a pH 8 se obtuvo el más bajo 39.06 ± 1.23 , estos datos se pueden corroborar en el Anexo C. Además se obtuvo un rendimiento en peso de 10.8 gramos APSI a partir de 30 gramos de TS (Anexo B), por ende se optó por utilizar este parámetro para la determinación de las propiedades funcionales del APSI.

Cabe indicar que, a pH por encima de 12, la dispersión presentó un olor azufrado y un aumento de la viscosidad (Anexo G), que se vio disminuida durante la agitación. Según **Belitz et al., (2009)** esto se debe a la ruptura de los enlaces disulfuro por efecto del pH, afectando la estructura terciaria de la proteína con el consiguiente incremento de la viscosidad intrínseca (**Damodaran, 2008**). El APSI tuvo un contenido proteico de 84.04%, no habiendo diferencia significativa con los resultados reportados por **González et al., (2016)** ya que las muestras utilizadas fueron obtenidas de la misma empresa y que posiblemente proceden de un mismo lote, a diferencia de **Mercado et al., (2015)** que empleó el ecotipo Pinto Recodo.

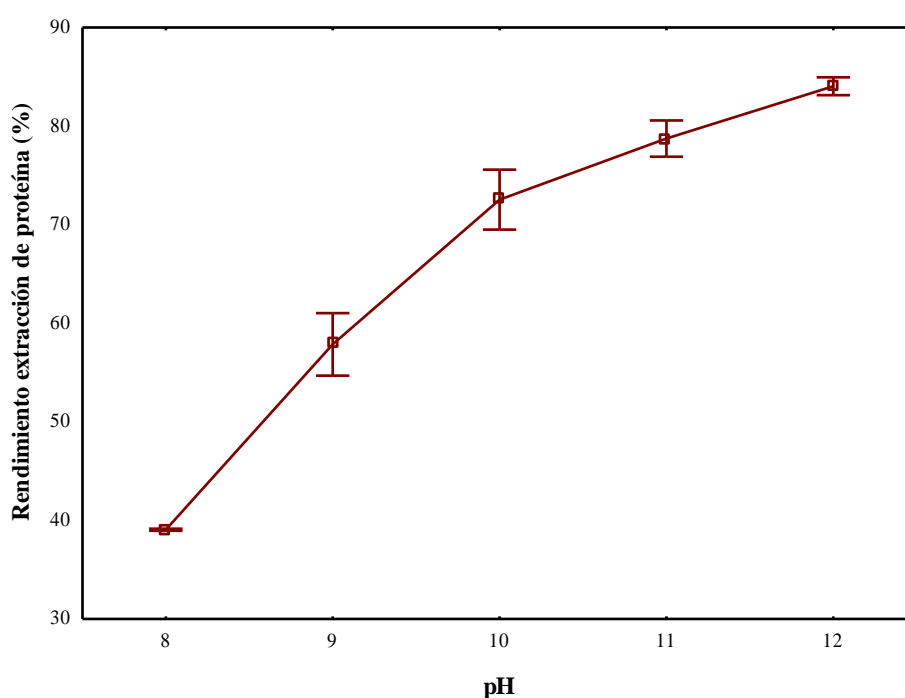


Figura 8. Efecto del pH en el rendimiento de extracción de proteína de torta de sachá inchi.

Tabla 5

Composición química del aislado proteico de sachá inchi (APSI)

Componente	Datos experimentales	González et al., 2016	Mercado et al., 2015
Humedad	4.50±0.10	6.69±0.31	3.01±0.06
Proteína	84.04±0.54	85.81±0.84	92.15±0.04
Grasa	7.44±0.28	6.30±0,08	0.12±0.02
Ceniza	3.10±0.09	3.17±0,07	2.00±0.05
Fibra cruda y Carbohidratos Disponibles	0.81±0.46	1.67±0.94	2.72±0.06

3.4. Determinación de los parámetros óptimos para la obtención del APSI

Los parámetros óptimos obtenidos por superficie de respuesta nos permiten predecir los efectos principales y la interacción de las variables independientes frente al rendimiento de proteína y lograr alcanzar valores máximos.

El análisis de varianza (ANVA) de los datos experimentales de rendimiento de proteínas se muestran en la Tabla 6, el análisis de varianza muestra que el tiempo (Q) si tiene significancia estadística en relación a la torta/ solvente.

Existen reportes científicos que muestran la influencia de los parámetros relación de extracción y pH sobre el tiempo de extracción (Aquino, 2015).

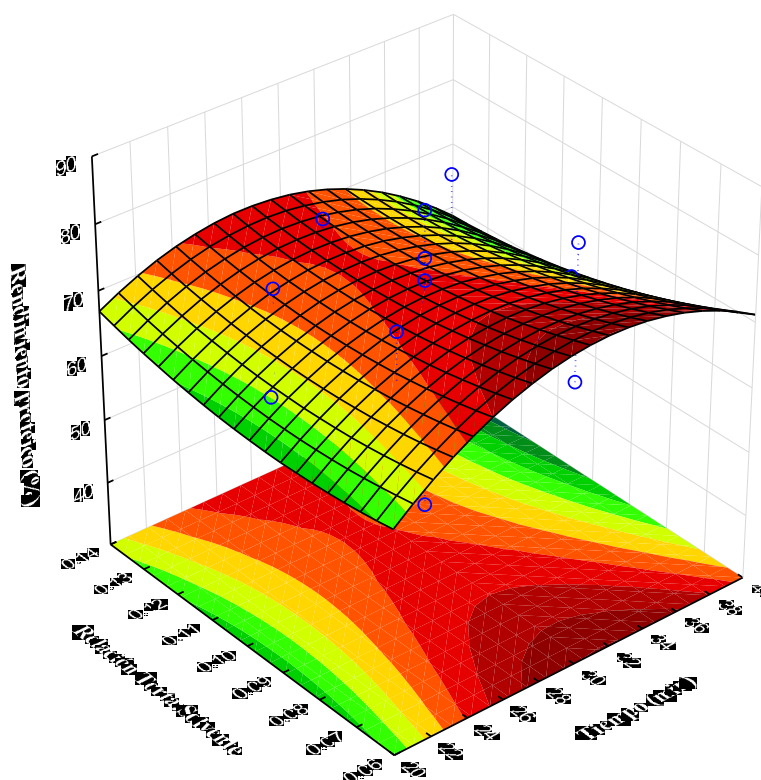


Figura 9. Comportamiento del rendimiento proteico en relación soluto/solvente con el tiempo

En la figura 9, se observa que al tiempo de 30 minutos se obtuvieron altos rendimientos de proteína, mientras que la relación torta/solvente se encuentra constante a lo largo de la

extracción, haciendo que este último factor no tenga impacto significativo en el rendimiento de proteína.

En la Tabla 6, se presenta el análisis estadístico (ANVA) indicando que el factor tiempo tiene un efecto significativo ($\alpha=0.05$) en la solubilización de proteínas de Sacha Inchi. La mayor extracción de proteínas se obtuvo a los 30 min, dicho resultado se encontró dentro de lo reportado por **Calisaya & Alvarado (2009)**, **Manso (2006)** y **Gonzales (1999)**.

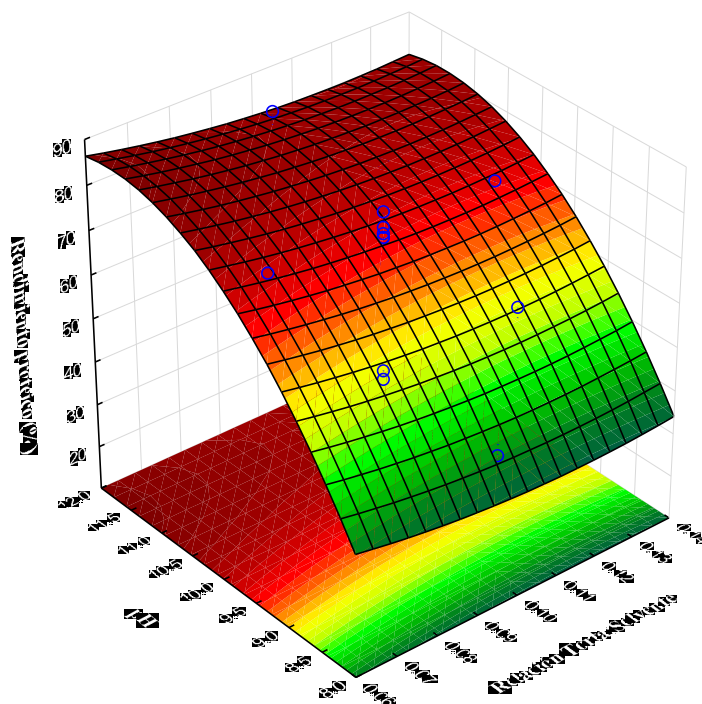


Figura 10. Comportamiento del pH y la relación soluto/solvente en el rendimiento de extracción del APSI.

En la figura 10, se observa que a partir del pH 9 se obtiene resultados de extracción de proteínas, sin embargo, a pH 12 este incremento se ve con mayor nitidez, reportando una alta significancia en el rango de pH establecido en este estudio, lo que corrobora lo indicado por **Rodríguez et al., (2010)** quienes manifiestan que se obtiene mayor solubilidad de las proteínas a valores elevados de pH y que este factor es muy importante en la obtención de altos rendimientos de proteína y las cantidades mínimas de solubilidad se debe específicamente a la carencia de repulsión electrostática entre las proteínas, lo que promueve la agregación y precipitación vía interacciones hidrofóbicas.

La acidificación del extracto proteico producto de la precipitación isoelectrica reacciona haciendo precipitar la mayor fracción proteica, perdiéndose significativamente en el sobrenadante algunas proteínas tipo albúmina ricas en azufre (**Rodríguez et al., 2010**)

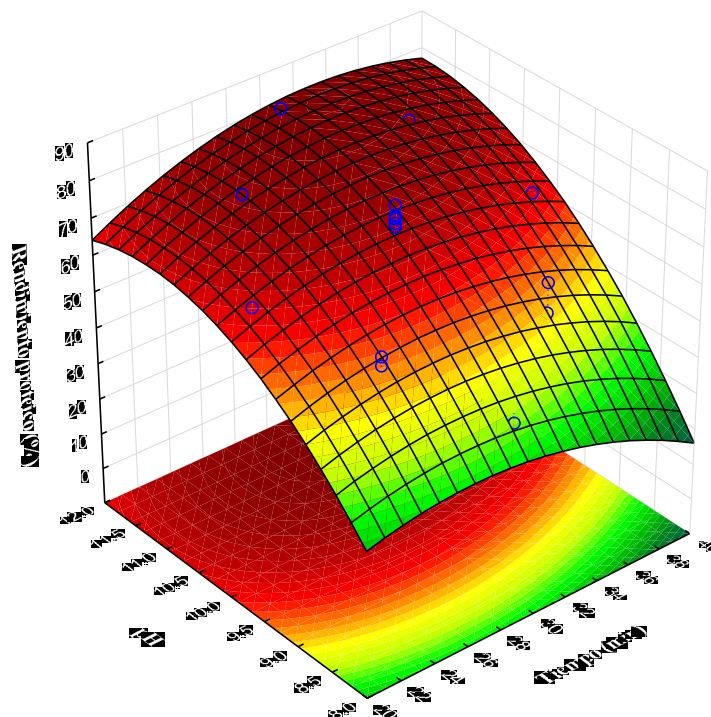


Figura 11. Comportamiento del pH y el tiempo en el rendimiento de extracción de proteína de torta sachá inchi.

En la Figura 11, se observa que al transcurrir el tiempo (L), no afecta significativamente en el rendimiento en relación al pH, ya que el pH posee mayor significancia de acuerdo al ANVA (Tabla 6), por lo contrario el comportamiento del pH si afecta significativamente el rendimiento, esto coincide con lo mencionado por **Cheftel et al. (1989)** quienes afirman que los factores como el tipo de solvente, materia prima, fuerza iónica, la temperatura y principalmente el pH, afectan significativamente en el proceso de extracción de las proteínas, de igual manera **Linden y Lorient (1996)** afirman que estos factores intervienen simultáneamente produciendo máxima solubilidad de la proteína.

Tan et al. (2014) mencionan que la carga neta y repulsión electrostática también son fundamentales en este tipo de investigaciones.

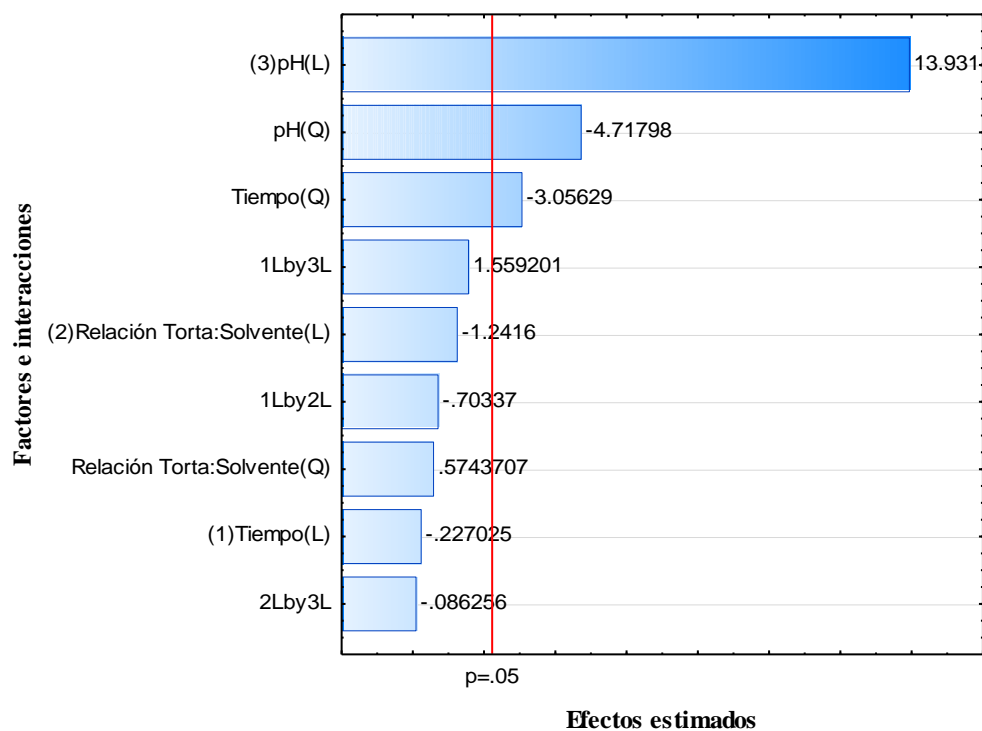


Figura 12. Diagrama de Pareto estandarizado para el DCA con arreglo factorial 2^K con replica en el punto central.

En la Figura 12, se observa que la distancia de cada variable es proporcional al efecto acumulado a la respuesta del experimento, esto quiere decir que cualesquiera de las variables que sobrepasen la línea roja indica el comportamiento significativo de los factores ya sean en lineal o cuadrática al nivel de significancia ($p < 0.05$). El pH en su forma lineal manifiesta un alto nivel de significancia y en su forma cuadrática es ligeramente significativa; el tiempo (Q), también es un factor que, si influye manifestándose en el rendimiento de extracción de proteína, mientras que la relación torta solvente (Q) (L) y sus interacciones no presentó significancia alguna.

El análisis de varianza (Tabla 6) ratifica lo establecido en el diagrama de Pareto a un nivel de significancia de $p < 0.05$, el pH (L, P) y el tiempo fueron significativos, es decir que son factores que afectan a la respuesta (Rendimiento extracción de proteína).

Tabla 6

ANVA de los factores lineales y cuadráticos.

Factor	Suma de cuadrados	df	Cuadrado Medio	F-Ratio	P
(1) Tiempo (L)	0.506	1	0.506	0.0515	0.824978
Tiempo (Q)	91.72	1	91.72	9.3409	0.012121
(2) Relación Torta:Solvente(L)	15.137	1	15.137	1.5416	0.242717
Relación Torta:Solvente(Q)	3.239	1	3.239	0.3299	0.578408
(3) pH (L)	1905.747	1	1905.747	194.0839	0
pH (Q)	218.569	1	218.569	22.2594	0.000819
1L by 2L	4.858	1	4.858	0.4947	0.497874
1L by 3L	23.872	1	23.872	2.4311	0.150008
2L by 3L	0.073	1	0.073	0.0074	0.932966
Error	98.192	10	9.819		
Total SS	2349.659	19			

Soluto/solvente, Tiempo y Ph

3.5. Propiedades Funcionales

Las propiedades funcionales más importantes en el procesamiento de alimentos según **Boye et al. (2010a)** son: La solubilidad, capacidad de retención de agua, absorción de aceite, capacidad emulsificante, formación de espumas y de gelificación (Anexo D).

3.5.1. Solubilidad

La curva de solubilidad de las proteínas aisladas de sachá inchi a diferentes valores de pH se muestran en la figura 13, donde los valores por debajo de pH 8, coinciden con la región donde se encuentra el punto isoeléctrico de las proteínas. Los resultados de la solubilidad presentan la influencia directa por el pH (**Yu, Ahmedna, & Goktepe, 2007**) y una gran variabilidad de la proteína de sachá inchi alcanzó una máxima solubilidad a un pH 12 (84.04%) y la mínima en un pH 8 (20.65%).

Mercado et al., (2015) llegaron a obtener un máximo de solubilidad a un pH 11 (99.4%) y mínimo a pH 6 (18.7). Esta disminución de la solubilidad se deba al ecotipo de sachá inchi o al tipo aminoácidos que contenga por consecuente la presencia de grupos hidrofílicos causado por la desnaturalización de las proteínas globulares por

tratamientos físicos y químicos (**Badui Dergal, 2006**). La solubilidad del APSI reporta un comportamiento mayor a lo observado para proteínas de otras fuentes como la nuez de castilla y marañón (**Mao & Hua, 2012; Ogunwolu et al., 2009**), debido probablemente a la mayor interacción proteína-disolvente (**Singh, Kaur, & Sandhu, 2005**).

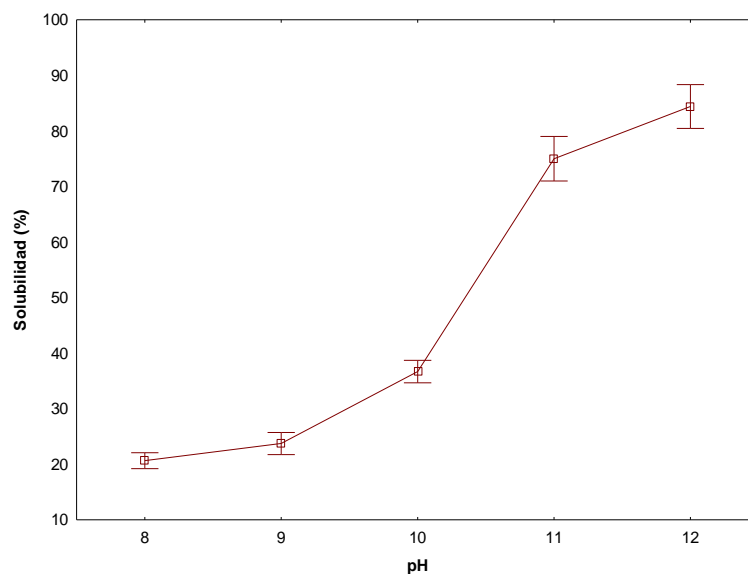


Figura 13. Efecto del pH frente a la solubilidad del APSI

3.5.2. Capacidad emulsificante (CE)

En la Figura 14 se observa que se alcanza una mayor CE a pH 12 (53.32%) y una menor a pH 8 (20.71%) y la curva tiende a decrecer si aumentamos el pH, existiendo una diferencia significativa ($p < 0.05$), **Mercado et al. (2015)** obtuvieron un aislado proteico a un pH 7 (59,11%) y aislado proteico de soya 55,81%.

La CE a un valor cercano a pH 7 (punto isoeléctrico) fue menor, esto debido por la desnaturalización y/o factores que afectan la solubilidad o la conformación nativa, como temperatura, pH y efectos iónicos, que intervienen directamente en la flexibilidad de las proteínas, teóricamente un aumento de la solubilidad de la proteína facilita la interacción entre las fases oleosa y acuosa (**Wu, Wang, Ma, & Ren, 2009**) y según **Padilla et al., (1996)** la mayor CE (pH >8) se debe a la mayor presencia de grupos no polares en la cadena de proteínas.

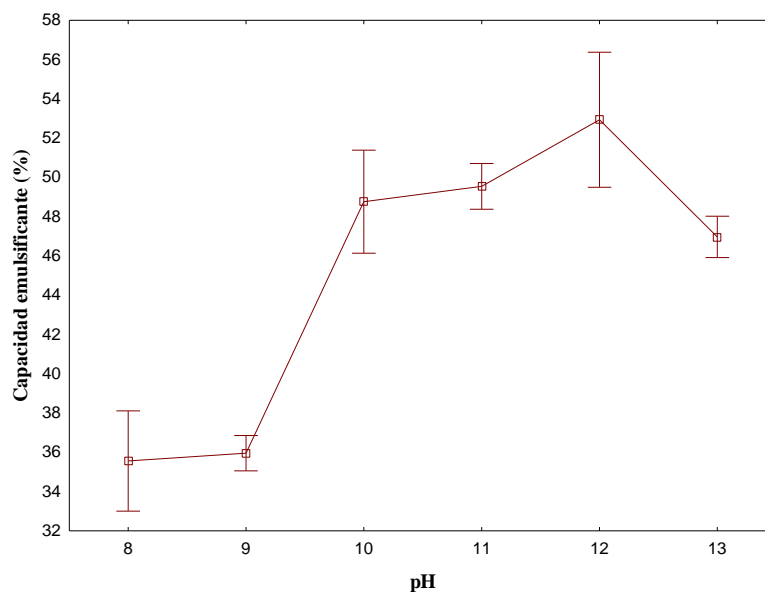


Figura 14. Efecto del pH frente a la capacidad emulsificante del APSI.

3.5.3. Capacidad de retención de agua (CRA)

La presente investigación el aislado proteico de sachá inchi mostró una mayor CRA (4.7 g agua/g APSI) en el rango de 10 a 12 de pH, con respecto a lo encontrado por **Mercado *et al.* (2015)** donde alcanzó un CRA aproximadamente de 2.0 g agua/g APSI en el rango de pH de 6 a 10.

Según **Yusuf *et al.* (2008)** el CRA tiene una relación directa con el contenido de aminoácidos polares presentes en la proteína, por lo que se ve disminuido por los factores de pH, tiempo y la cantidad de soluto y que están relacionadas con la solubilidad de las proteínas en agua, que, a su vez, contribuye para la disminución de la tensión interfacial entre los compuestos hidrofóbicos e hidrofílicos, existiendo una mayor disposición de las moléculas para actuar en la interfase. Este valor de CRA se encuentra dentro del rango recomendado para su aplicación en alimentos viscosos (**Aletor, Oshodi, & Ipinmoroti, 2002**).

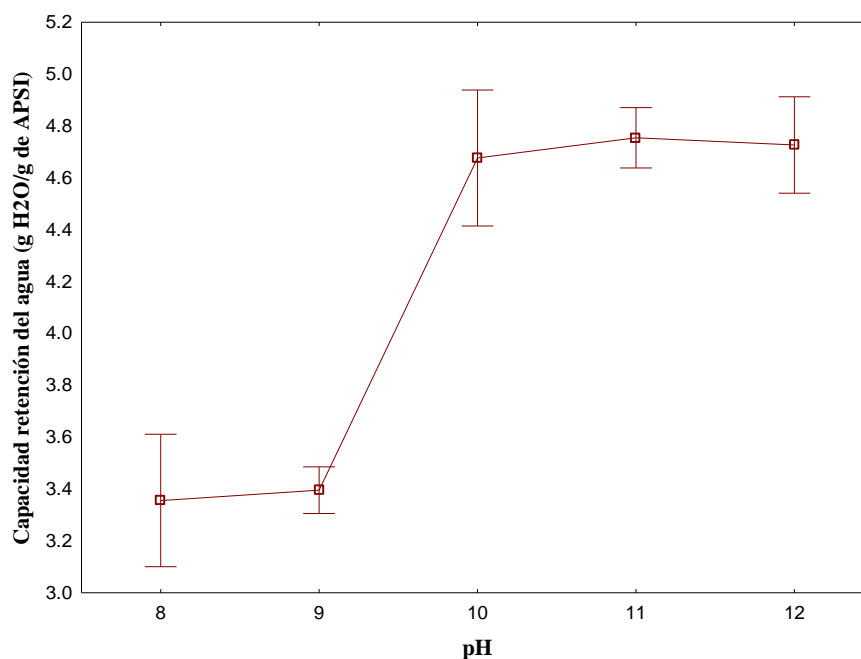


Figura 15. Efecto del pH frente a la capacidad de retención del agua en el APSI

3.5.4. Capacidad de Absorción de Aceite (CAA)

En la Tabla 6, se observa que el APSI presenta la CAA a un pH 12 de 267.12%. Según **Yusuf et al. (2008)** un aislado proteico tiene buenas características de CAA si alcanza un valor de 300%. En el presente estudio podemos indicar que la capacidad de absorción de grasa fue superior que la obtenida por aislados proteicos de otras plantas comparada con la harina de semillas de quinchoncho (2,04 mL/g) (**García et al., 2012**), en similitud a lo reportado para los aislados proteicos de semillas de *G. biloba* de 2.56 mL/g (**Deng et al., 2011**), nuez de castilla (**Mao & Hua, 2012**), sin embargo, con lo obtenido con **Mercado et al., (2015)** podemos indicar que no existe diferencia significativa (271.04%).

Estos resultados confirman el comportamiento expresado por **Gonzales (1999)** que indica que la capacidad de absorción de grasa también es función de los parámetros de pH, temperatura, etc. y al igual que la absorción de agua es afectada por los cambios conformacionales que pueden haber sufrido las moléculas de proteínas durante el procesamiento del aislado.

Tabla 7
Capacidad de adsorción de aceite de APSI

Muestra	Capacidad Absorción de Aceite (g aceite/g APSI)	Capacidad Absorción de Aceite (%)
Aislado proteico de sachu inchi (APSI)	2.5744±0.00	267.12±0.04

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

3.5.5. Capacidad de formación de espuma (CFE)

La capacidad de formación de espuma más baja se manifestó por debajo del pH 8 (49%), esto por presentar solubilidad baja en este punto, siendo menos flexible para desarrollar espuma, mientras que la mayor se encontró a pH 12 (78%). **Lawal et al., (2005)** reportaron que las albúminas, globulinas y harina desgrasada de frijol presentaron por encima de 65%; mientras que valores de 84.6, 53.8 y 42.4% se reportaron para albúminas, aislado proteico y globulinas obtenidas de *G. biloba*, respectivamente, en condiciones básicas (pH entre 8 y 9) (**Deng et al., 2011**). El aislado proteico de soya presentó un valor de 41,8% (**Boye, Zare, & Pletch, 2010**), esto es corroborado por (**Khalid et al. 2003; Mashair et al. 2006**), quienes mencionan que el pH se aproxima a su pI cuando la carga neta de las proteínas es mínima por lo que es menos soluble y tiene menos flexibilidad para desarrollar espuma, lo que lleva a un aumento de la tensión superficial.

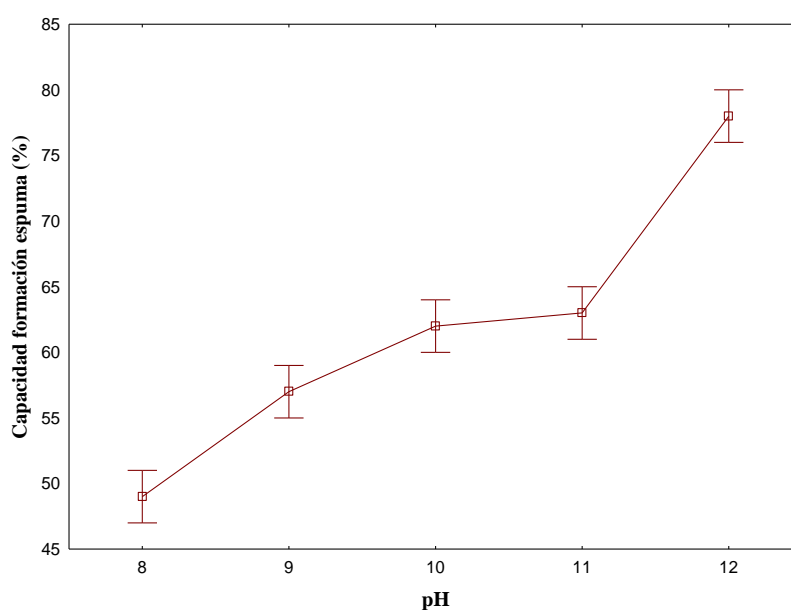


Figura 16. Efecto del pH frente a la capacidad de formación de la espuma en el APSI

3.5.6. Estabilidad de espuma (EE)

La Estabilidad de espuma del APSI presentó una cierta estabilidad (EE), sin embargo, por debajo del pH 8 (30%) existe una cierta tendencia a disminuir esto se debe a que a un menor pH alcanza su punto isoeléctrico y que materias no proteicas comprendidas en la torta de sachu inchi interfieren en la estabilidad de la espuma demostrándose que a pH mayores la espuma es más inestable (Mashair et al. 2006). No obstante, el estudio de la desestabilización generalmente involucra una gran cantidad de técnicas y equipos, como son determinaciones volumétricas, pérdida del área de interfase, conductividad y espectroscopía por onda difusa (Sceni 2007) y que, en la mayoría de los casos, nunca dan una información completa sobre todo el proceso en sí.

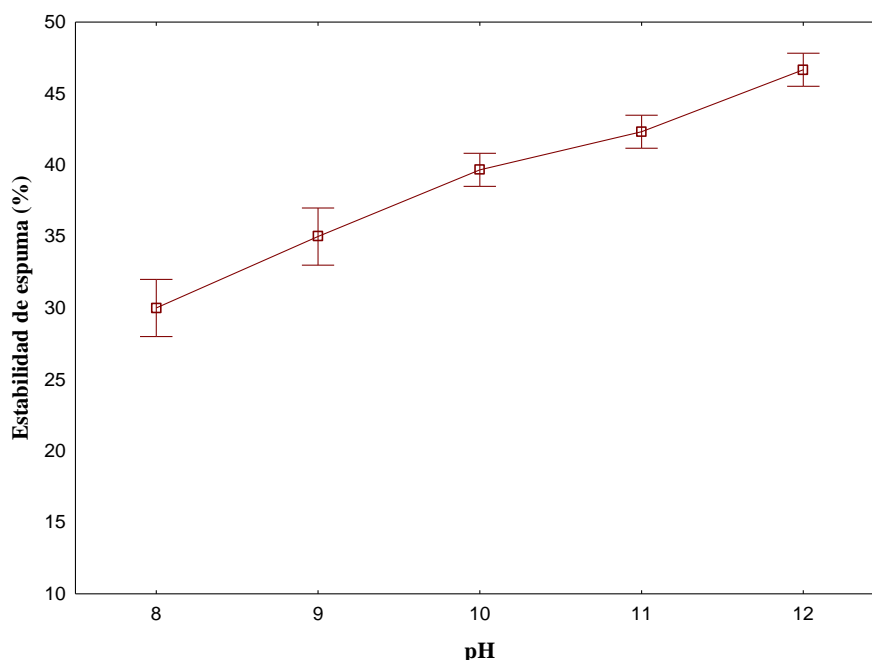


Figura 17. Efecto del pH frente a la estabilidad de espuma en el APSI

3.5.7. Concentración Mínima de Gelificación

El APSI en la figura 18, mostró una estabilidad del gel del 13% de concentración. Según Mashair et al., (2006) se necesita entre 12 a 14% de concentración mínima para gelificar proteínas de distintas leguminosas, resultados similares obtuvieron Mercado et al., (2015) quienes alcanzaron una concentración de 15%, esto se debe a que las propiedades estructurales y funcionales de los geles no

dependen solamente de las características propias de las proteínas que conforman dicho gel sino también de las condiciones (pH, fuerza iónica, concentración de proteínas, etc.), en las cuales el gel es obtenido. De esta manera las proteínas tienden a agregarse por no haber repulsión entre moléculas cargadas, dando como resultado geles opacos y de estructura grosera (**Barbut, 1995**).

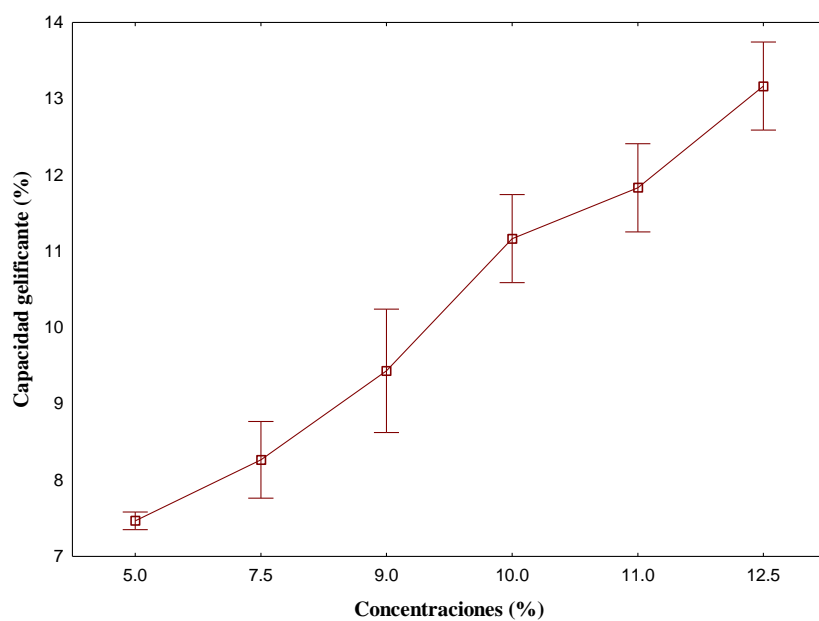


Figura 18. Variación de la capacidad gelificante frente a la concentración

CONCLUSIONES

1. El contenido de proteína en la torta de sachu inchi fue de 54.15%, mientras que el aislado proteico alcanzó 88% en base seca.
2. Los parámetros óptimos determinados para la obtención de aislado proteico fueron 30 minutos en tiempo de agitación magnética, 6/60 relación soluto/solvente y pH 12.
3. Las propiedades funcionales del APSI (Anexo D), alcanzaron 84.4% de solubilidad, capacidad emulsificante (CE) 53.32%, capacidad de retención de agua (CRA) de 4.7 g agua/g APSI, capacidad de absorción de aceite (CAA) fue de 267.12%, capacidad de formación de espumas alcanzó el punto más bajo en el pH 8 (49%), estabilidad de espuma (EE) a un pH 8 (30%), finalmente la concentración mínima de gelificación alcanzó un valor de 13%.

RECOMENDACIONES

1. Incluir en otras investigaciones el efecto de las variaciones de la temperatura o efecto sobre la extracción de proteínas.
2. Investigar los tipos de proteínas presentes en el APSI.
3. La información obtenida en este trabajo, por los rendimientos del proceso como por las propiedades funcionales, podrían emplearse en la elaboración de productos de mayor valor agregado.
4. Evaluar la presencia de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en los productos proteicos de sachá inchi.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aletor, O., Oshodi, A., & Ipinmoroti, K. (2002). *Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates*. Food Chemistry, 63-68.
- Añón, M. C.; Sorgentini, D. y Wagner, J. (2001) *Relationships between Different Hydration Properties of Comercial and Laboratory Soybean Isolates*. J. Agric. Food. Chem. 49: 4852-4858, 2001.
- AOAC International. (1998). *AOAC Official Method 920.39 - Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed*. En *AOAC International, Official Methods of Analysis* (pág. 12). Gaithersburg: AOAC International.
- AOAC International. (1998). *AOAC Official Method 923.03 - Ash of Flour*. En *AOAC International, AOAC International* (pág. 5). Gaithersburg: AOAC International.
- AOAC International. (1998). *AOAC Official Method 935.29 - Moisture in Malt*. En *AOAC International, Official Methods of Analysis* (pág. 27). Gaithersburg: AOAC International.
- AOAC International. (1998). *AOAC Official Method 962.09 - Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food*. En *AOAC International, Official Methods of Analysis* (pág. 26). Gaithersburg: AOAC International.
- AOAC International. (1998). *AOAC Official Method 991.20 - Nitrogen (Total) in Milk*. En *AOAC International, Official Methods of Analysis* (pág. 24). Gaithersburg: AOAC International.
- Arevalo, G. (1989-1995). *Informes de Resultados de investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología*. E.E. “El Porvenir”. 20 p.
- Aquino Méndez, E. M. (2015). *Optimización del proceso de extracción de las proteínas de la torta de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.)*.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos (4ª Edición.)*. México: Ed Person.
- Barbut, S. (1995). *Effect of sodium level on the microstructure and texture of whey protein isolate gels*. Food Research International, 28: 437-443.
- Belitz, H.D., W. Grosch y P. Schieberle, (2009). *Food Chemistry, 4ª Ed.*, 8-89, Springer, Heidelberg. Alemania.

- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414–431. doi:10.1016/j.foodres.2009.09.003
- Boye, J.; Aksay, S.; Roufik, S.; Ribereau, M.; Mondor, M. and Farnworth, E. 2010a. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation technological. *Food Research International* 43(2): 537-548.
- Bussmann, R. W. *Plukenetia Huayllabambana* Sp Nov (euphorbiaceae) From The Upper Amazon Of Peru[J]. *Nordic Journal Of Botany*,2009, 27(4):313-315.
- Callisaya JC, Alvarado J. (2009). Aislados proteínicos de granos altoandinos chenopodiaceas; quinua “*Chenopodium quinoa*” – cañahua “*Chenopodium pallidicaule*” por precipitación isoelectrica San Andrés: *Revista Boliviana de Química*; 2009.
- Cheftel, J.; Cuq, J. y Lorient, D. (1989) “Proteínas Alimentarias” Zaragoza, España. Editorial Acribia S.A.
- Chew, P. G., Casey, A. J., & Jhonson, S. K. (2003). Prtotein composition of seed of *Lupinus albus*. *Journal of Food Science*, 43 (5).
- Jones, P., Binns, D., Chang, H.-Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., ... Hunter, S. (2014). InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics*, 30(9), 1236–1240. <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu031>
- Chirinos, O.; Adachi, L.; Calderón, F.; Díaz, R.; Larrea, L.; Mucha, G.; Roque, L. 2009. Exportación de aceite de sacha inchi al mercado de Estados Unidos. Lima, Universidad ESAN, 172 p.
- Chirinos, R., Aquino, M., Pedreschi, R., & Campos, D. (2017). Optimized Methodology for Alkaline and Enzyme Assisted Extraction of Protein from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) Kernel Cake. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2).
- Damodaran S. (1997). Food Proteins: An Overview. In: *Food Proteins and Their Applications*. Ed. Marcel Dekker Inc. USA. pp. 1-30.
- Damodaran, S., (2008). Aminoacids, Peptides, and Proteins, en *Fennema’s Food Chemistry* por S. Damodaran, K. Parkin, O.R., Fennema, 217-329, CRC Press, Boca Raton, USA
- Deng, Q., Wang, L., Wei, F., Xie, B., Huang, F., Huang, W., et al. (2011). Functional properties of protein isolates, globulin and albumin extracted from Ginkgo biloba

- seeds. *Food Chemistry*, 124(4), 1458–1465. doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.108.
- Dickinson, E. (1989). "Protein Adsorption at Liquid Interfaces and the Relationship to foam stability", *Foams: Physics, Chemistry and Structure*, ed. by A.J. Wilson, Basel: Springer-Verlag, Ch.4: 39-53.
- Dostert, N., Roque, J., Brokamp, G., Cano, A., La Torre, M.I., Weigend, M. Factsheet: (2009). Datos botánicos de Sacha Inchi. *Plukenetia volubilis* L. Proyecto Perú Biodiverso. GTZ- SECO-MINCETUR.
- Fanali, C., Dugo, L., Cacciola, F., Beccaria, M., Grasso, S., Dacha, M., et al. (2011). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 59, 13043.
- Fasanando J. (2012). Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de torta desengrasada de Piñón Blanco (*Jatropha curcas* L.).
- Fennema OR. 1996. *Food Chemistry*. Ed. Marcel Dekker Inc. ed. 321-429.
- García, O., Mazzarri Aiello, C., & Chirino Peña, M. (2012). Caracterización fisicoquímica y propiedades funcionales de la harina obtenida de granos de quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) sometidos a diferentes procesamientos. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4), 919–928.
- Giese, J. (1994) *Proteins as Ingredients: Types, Functions, Applications*. FoodTech. 50-60, octubre, 1994.
- Gómez Barrantes M. (2007). *Elementos de Estadística Descriptiva*. Editorial Grasas y aceites 62(1): 76 – 83.
- González Quijada MR. (1999). *Caracterización fisicoquímica y valoración nutricional de un aislado proteico obtenido de la semilla de Ébano Monterrey*: Universidad Autónoma de Nuevo León; 1999.
- González-Linares, J. I., Medina-Vivanco, M. L., Garay-Montes, R., & Mendieta-Taboada, O. W. (2017). Desarrollo de Películas Comestibles a partir de Proteínas Extraídas de la Torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Información tecnológica*, 28(5), 115-130.
- Gutiérrez, F.; Rosada, L. y Jiménez, A. (2011). Chemical composition of inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Anales Científicos UNALM* 42: 144 – 158.
- Halling, PJ. (1981) "Protein-stabilized foams and emulsions", *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 12: 155-203.

- Hamaker, B. R. Amino-acid And Fatty-acid Profiles Of The Inca Peanut (*Plukenetia volubilis*)[J]. *Cereal Chemistry*, 1992, 69(4):461-463.
- Hazen y Stoewesand. (1980). Resultados de análisis del aceite y proteína del cultivo de sachá inchi. Universidad de Cornell. USA.
- IIAP. (2009). Estudio de viabilidad económica del cultivo de *Plukenetia volubilis* Linneo, Sachá inchi, en el Departamento de San Martín, Avances Económicos N° 3, Iquitos, Perú, 68 p.
- Khalid, E., Babiker, E., & El Tinay, A. (2003). Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food chemistry*, 82(3), 361-366. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00555-1. Sudan
- Khatab, R. Y., & Arntfied, S. D. (2009). Functional properties of raw and processed canola meal. *LWT – Food Science and Technology*, 42, 1119-1733.
- Kinsella, J. E. (1976). Functional properties of food proteins: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1(3): 219-280.
- Lawal, O.S., Adebawale, K.O., Ogunsanwo, B.M., Sosanwo, O.A., & Bankole, S.A. (2005). On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobosa*). *Food Chemistry*, 92(4), 681–691. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.043.
- Linden, G. y Lorient, D. (1996). *Bioquímica agroindustrial: Revalorización alimentaria de la producción agrícola*. 1a ed. Zaragoza, España, Editorial Acribia S.A. 428p.
- Mao, X., & Hua, Y. (2012). Composition, structure and functional properties of protein concentrates and isolates produced from walnut (*Juglans regia* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2), 1561–1581. doi:10.3390/ijms13021561
- Martínez, E. N. y Añón, M. C. (1996). “Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Chicago. v. 44, n. 9, p. 2423-2430.
- Martínez, J. J., Medina, O. J., & Zambrano, R. (2011). Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis* f). *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(1).
- Mashair, S.; Abdullahi, E. T.; Abd, E.; Elfadil, B. and Elhadi, E. (2006). Solubility as influenced by pH and NaCl Concentration and functional properties of lentil proteins isolate. *Pakistan Journal of Nutrition* 5(6): 589-593.

- Mashair, S.; Abdullahi, E. T.; Abd, E.; Elfadil, B. and Elhadi, E. (2006). Solubility as influenced by pH and NaCl Concentration and functional properties of lentil proteins
- Mercado, J. L., Elías, C. C., & Pascual, G. J. (2015, Obtención de un aislado proteico de Torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y evaluación de sus propiedades Tecno-Funcionales. *Anales Científicos* (Vol. 76, No. 1, pp. 160-167).
- Mimouni, B., Raymond, A.M., Merle-Desnoyers, A.M., Azanza, J.L., y Ducastaing, A. (1994). Combined acid deamidation and enzymatic hydrolysis for improvement of the functional properties of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 21, 153-165.
- Mondragón, I. (2009). Estudio farmacognóstico y bromatológico de los residuos industriales de la extracción del aceite de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi), Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Nagano, T., Fukuda, Y., y Akasaka, T. (1996). Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of b-conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolate. *J. Agric. FoodChem.* 44, 3484-3488.
- Ogunwolu, S. O., Henshaw, F. O., Mock, H.-P., Santos., & Awonorin., S.O. (2009). Funtional properties of pretein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chemistry*, 115, 852-858.
- Onweluzo, J.C., Onuoha, K.C. & Obanu, Z.A. *Plant Food Hum Nutr* (1995) 48: 55. <https://doi.org/10.1007/BF01089200>.
- Padilla, F. C.; Alvarez, M. T.; Alfaro, M. J.; Macarulla, M. T.; Del Barrio, A. S. and Martínez, J. A. 1997. Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. *Plant Foods for Human Nutrition* 51(4): 331-341.
- Paredes-López, O.; Mora-Escobedo, R. y Ordorica-Falomir, C. (1988). "Isolation of amaranth protein". *LebensmWis U-Technol.* v. 21, n. 1, p. 59-61.
- Pascual, G. y Mejía, M. (2000). Extracción y caracterización de aceite del sachá.
- Pedroche, J., Yust, M., Lqari, H., Giron-Calle, J., Alaiz, M., Vioque, J., & Millan, F. (2004). Brassica carinata protein isolates: chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. *Food chemistry*, 88(3), 337-346.

- Porras, J. 2010. Caracterización del proceso de aislado proteico de la proteína de Lupinos Silvestre del estado de Hidalgo, Distrito Federal, México.
- Proamazonía. s/a. Programa para el Desarrollo de la Amazonía, Ministerio de Agricultura. http://proamazonia.minag.gob.pe/cultivos/sachainchi/proyecto_omega.pdf, visitado en marzo 2014.
- Rawdkuen S., Murdayanti D., Ketnawa S., Phongthai S., (2016). Chemical properties and nutritional factors of pressed-cake from tea and sacha inchi seeds. *Food Bioscience*, Volume 15, 1 September 2016, Pages 64-71. doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.004. *Reviews in Food Science and Nutrition* 7: 219 – 280.
- Rodríguez- Ambríz, S., Martínez-Ayala, A., Millán, F., & Dávila-Ortiz, G. (2005). Composition and functional properties of *lupinus campestris* protein isolates. *Plant Food for Human Nutrition*, 60, 99-107. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction.
- Rodríguez F. Pablo, Pérez Elevina, Guzmán Romel (2010). Propiedades Químicas y Nutricionales de Aislado Proteico de hojas de *Amaranthus dubius*. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado Postal 47097. Los Chaguaramos, Caracas 1041-A, Venezuela.
- Rodríguez, A., Corazón-Guivin, M., Cachique, D., Mejía, K., Del Castillo, D., Renno, J-F., García-Dávila, C. (2010). *Revista Peruana de Biología*, 17, 325.
- Ruiz, C., & Díaz, C., & Anaya, J., & Rojas, R. (2013). Análisis Proximal, Antinutrientes, Perfil de Ácidos Grasos y de Aminoácidos de Semillas y Tortas de 2 Especies De Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79 (1), 29-36.
- Salcedo-Chávez, B.; Osuna- Castro J. A.; Guevara- Lara F.; Domínguez- Domínguez J. y Paredes-López O. (2002). "Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 50, p. 6515-6520.
- Salcedo-Chávez, B.; Osuna- Castro J. A.; Guevara- Lara F.; Domínguez- Domínguez J. y Paredes-López O. (2002). "Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 50, p. 6515-6520.

- Salgado, P. (2009). *Proteínas de Girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria*, CIDCA-UNJP, La Plata. Argentina.
- Sceni P & Wagner J.R. (2007). *Food Science and Technology International*, 13, 461-468
- Schmidt-Hebbel, H., Pennachiotti, I.; Masson, L. y Mella, M.A. (1992). *Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos*, 8ª edición. Santiago, Chile. Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica.
- Scopes, R. K (1993). *Protein purification. Principles and practice* (Tercera edición ed) New York, Estados Unidos de Norteamérica: Springer-Verlag.
- Silva Manzo JA. (2006). *Obtención, caracterización y relación estructura – funcionalidad y relación estructura - funcionalidad proveniente de la VI región de Chile*. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2006.
- Singh U. 2001. Functional properties of grain legume flours. *J. Food Sci Technol.* 38:3, 191-199.
- Singh, N., Kaur, M., & Sandhu, K.S. (2005). Physicochemical and functional properties of freeze-dried and oven dried corn gluten meals. *Drying Technology*, 23(4), 975–988. doi:10.1081/drt-200054253
- Tan, E.; Ngoh, Y. y Gan, Ch. (2014). A comparative study of physicochemical characteristics and functionalities of pinto bean protein isolate (PBPI) against the soybean protein isolate (SPI) after the extraction optimisation. *Food Chemistry* 152:447 – 455.
- Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez-Ramírez, J. C., & Ulloa-Rangel, B. E. (2012). *Producción de aislados proteicos a partir de subproductos industriales*.
- Valles, C.R. (1990). El “sacha inchi”, planta nativa de importancia proteica y aceitera promisoría para la selva alta. *Separata*, 2 p.
- Vioque, J.; Sánchez-Vioque, R.; Pedroche, J.; Yust, M.M.; Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos *Grasas y Aceites*. 52, 2, 127-131.
- Wagner, J.R., y Añón, M.C. (1990). Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolate. *J. FoodSci.* 55, 765-770.
- Wanasundara P.K.J.P.D., y Shahid, F. (1997). Functional properties of acylated flax protein isolate. *J. Agric. FoodChem.* 45, 2431-2441.

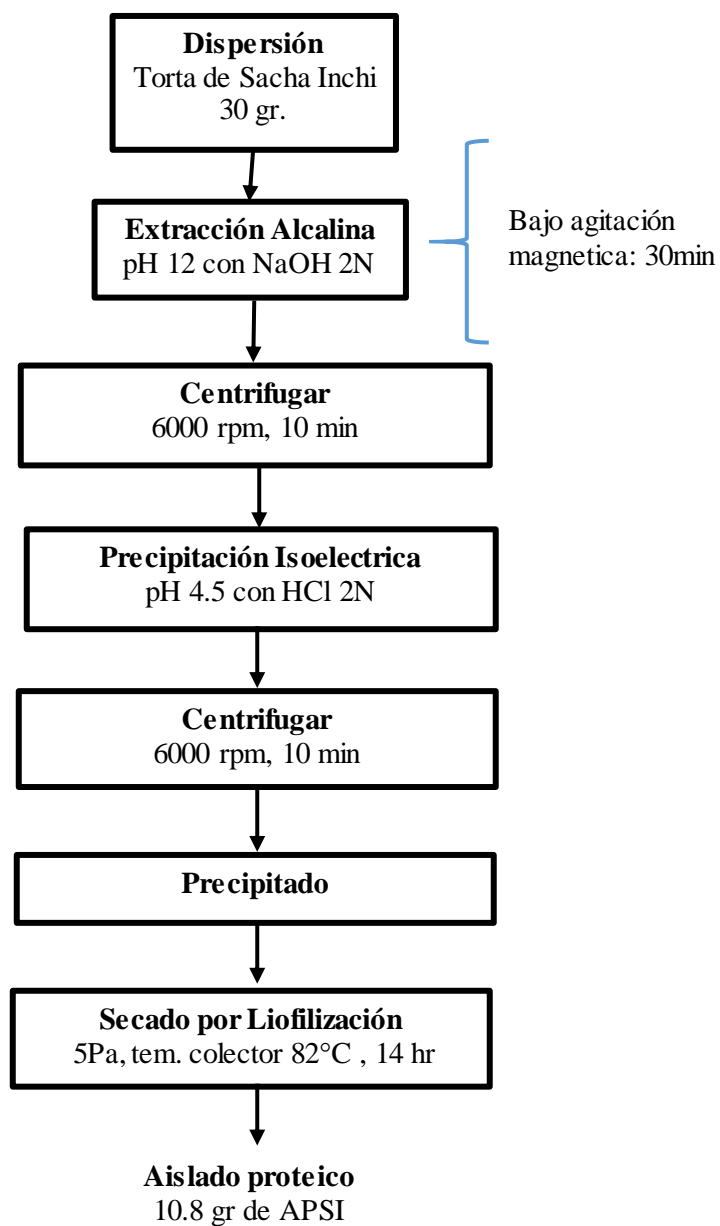
- Wu, H., Wang, Q., Ma, T., & Ren, J. (2009). Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42(3), 343–348. doi:10.1016/j.foodres.2008.12.006
- Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2007). Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food Chemistry*, 103(1), 121–129. doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.012
- Yusuf, A. A., Ayedun, H., & Sanni, L. O. (2008). Chemical composition and functional properties of raw and roasted Nigerian benniseed (*Sesamum indicum*) and bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *Food Chemistry*, 111(2), 277-282.
- Zheng, H.-G., Yang, X.-Q., Tang, C.; H., Li, L., & Ahmad, I. (2008). Preparation of soluble soybean protein aggregates (SSPA) from insoluble soybean protein concentrates (SPC) and its functional properties. *Food Research*, 41, 154-164.
- Zhou, B., He, Z., Yu, H., y Mukherjee, K.D. (1990). Protein from double-zero rapeseed. *J. Agric. FoodChem.* 38, 690-694.
- Zivanovic, I.; Vastag, Z.; Popovic, S.; Popovic, L. y Pericin, D. (2010). Hydrolysis of hullless pumpkin oil cake protein isolate by pepsin. *International Journal of Biological and Life Sciences* 6(1): 30 – 34.

ANEXOS

Anexos A. Datos experimentales para obtener la curva patrón

CURVA PATRON

N°	Conc gr/ml	Abs 540 nm
1	1	0.011
2	2.3	0.054
3	3.2	0.064
4	4.1	0.088
5	5.2	0.113
6	6	0.154
7	7	0.152
8	8	0.196
9	9.2	0.22
10	10.1	0.241

Anexos B. Rendimiento óptimo en extracción del APSI en el proceso.

Anexos C. Rendimiento de extracción del aislado proteico del sachu inchi (%)

Punto de diseño	X ₁	X ₂	X ₃	Respuesta	Rdto extracción
1	25(-1)	7/60(1)	9(-1)	(Y1)	24.56
2	35(1)	7/60(1)	9(-1)	(Y2)	23.90
3	25(-1)	5/60(-1)	9(-1)	(Y3)	22.81
4	35(1)	5/60(-1)	9(-1)	(Y4)	23.68
5	25(-1)	7/60(1)	11(1)	(Y5)	72.00
6	35(1)	7/60(1)	11(1)	(Y6)	76.00
7	25(-1)	5/60(-1)	11(1)	(Y7)	73.00
8	35(1)	5/60(-1)	11(1)	(Y8)	79.00
9	20(- α)	6/60(0)	10(0)	(Y9)	37.00
10	40(α)	6/60 (0)	10(0)	(Y10)	40.00
11	30(0)	8/60 (α)	10(0)	(Y11)	36.45
12	30(0)	4/60 (- α)	10(0)	(Y12)	34.57
13	30(0)	6/60(0)	8(- α)	(Y13)	20.65
14	30(0)	6/60(0)	12(α)	(Y14)	84.40
15	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y15)	34.00
16	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y16)	38.00
17	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y17)	39.00
18	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y18)	35.00
19	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y19)	37.00
20	30(0)	6/60(0)	10(0)	(Y20)	39.00

Anexos D. Promedio de datos experimentales de las propiedades funcionales del APSI

pH	CFE	EEA	CRA
8	49.00	30.00	3.36
9	57.00	35.00	3.40
10	62.00	39.66	4.68
11	59.66	42.33	4.75
12	78.00	46.66	4.73

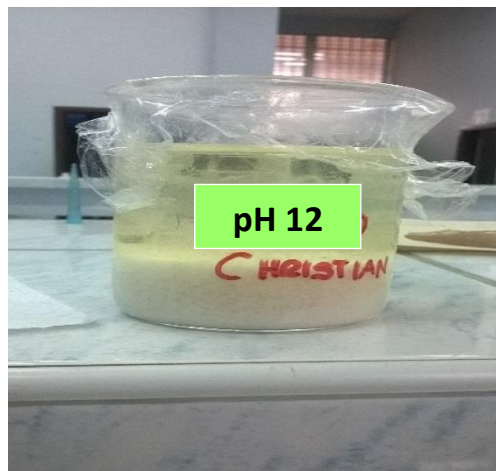
Anexos E. Torta despeletizada, tamizada de Sacha Inchi.



A. Torta molida de Sacha Inchi a 180um.

Anexos F. Vista de la obtención del aislado proteico de sachá inchi

Tratamientos 10, 8,14 EN
SOLUBILIZACIÓN

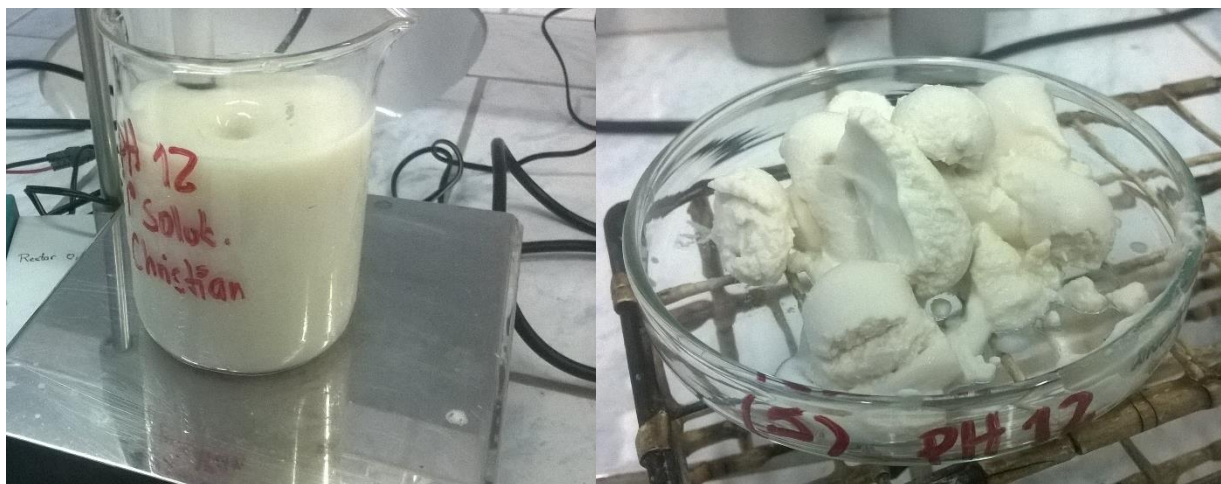


Precipitación isoelectrica pH 4.5
tratamiento 14



Precipitación isoelectrica pH 4.5
tratamiento 14

Anexos G. Mayor rendimiento de APSI alcanzado a pH 12, relación 6/60 y tiempo de 30 minutos.



Rendimiento de APSI a 6/60 relación soluto/solvente, pH 12 a 30 minutos.



Aislado Proteico Liofilizado, pH 12, 5 Pa, Temp. Colector 82°C.