Repositorio Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN TARAPOTO - PERU

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú.
Vea una copia de esta licencia en http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/

Obra publicada con autorización del autor

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

ELABORACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES BIODEGRADABLES UTILIZANDO PROTEÍNAS EXTRAÍDAS DE LA TORTA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

Presentado por:

Bach. JAIRO IVÁN GONZÁLEZ LINARES

Para optar el título profesional de

Ingeniero Agroindustrial

TARAPOTO – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

ELABORACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES BIODEGRADABLES UTILIZANDO PROTEÍNAS EXTRAÍDAS DE LA TORTA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

Para optar el título profesional de ingeniero agroindustrial

Presentado por:

Bach. JAIRO IVÁN GONZÁLEZ LINARES

MIEMBROS DEL JURADO

Ing. M.Sc. Enrique Terleira García PRESIDENTE	Ing. M.Sc. Enrique Navarro Ramírez SECRETARIO
Ing. M.Sc. Karen Gabriela Documet Petrlik MIEMBRO	Dr. Oscar Wilfredo Mendieta Taboada ASESOR

DEDICATORIA

A mi amada familia.

AGRADECIMIENTO

- A Dios en primer lugar, por su misericordia y amor y apoyo incondicional.

- A mis seres amados por su apoyo incondicional. De manera especial a mi amada mamá, Geni Linares Bensimón.

- A la familia Medina-Ramírez por su apoyo constante durante la elaboración de este estudio. De manera particular a Marilyn Estefany, por su compañerismo y amistad.

- Al Ing. Dr. Oscar Wilfredo Mendieta Taboada por su asesoramiento.

- Al Ing. Richer Garay por su apoyo técnico en la realización del trabajo experimental.

- A los ingenieros Enrique Terleira García, Karen Gabriela Documet Petrlik, y Enrique Navarro Ramírez, por sus consejos para mejorar la presentación de este trabajo.

- A todos mis amigos que laboran en la UNSM-T que contribuyeron con su tiempo y atención a la ejecución del trabajo experimental.

RESUMEN

En este estudio se elaboraron y evaluaron películas hechas a base de proteínas extraídas de la torta de Sacha Inchi, residuo de la industria aceitera, para aprovechar el alto contenido proteico de este (59,59±0,84%). Se utilizaron varias soluciones acuosas alcalinas y precipitación en el punto isoeléctrico (pH~4,5) para determinar las condiciones de máxima extracción de la proteína de Sacha Inchi. Las soluciones formadoras de películas, constituidas por las proteínas extraídas y liofilizadas, sorbitol y agua fueron, tratadas térmicamente (85°C/60 minutos) y luego del casting en placas de vidrio, se secaron (35°C/18 horas). Las películas resultantes, acondicionadas a 53% HR/25°C, fueron sometidas a la evaluación de sus propiedades físicas, tales como solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua, contenido de humedad, grosor y color (ΔE*, L*, a*, y b*), para determinar la manera en que son influidas por la concentración de proteínas y sorbitol. La extracción de proteínas a pH 12 mostró un máximo rendimiento (72,2±1,43%), obteniendo 28,39±1,88% proteínas liofilizadas respecto a la torta utilizada, con contenido de proteínas igual a 89,1±0,88%. Se obtuvieron películas brillantes por uno de los lados, transparentes, flexibles y de tonos amarillos. Tanto la concentración de proteínas y sorbitol tuvieron efectos significativos sobre el color (ΔE*, L*, y b*), solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua, y grosor. Se pudo establecer las combinaciones óptimas de proteína y sorbitol para producir películas con adecuadas propiedades físicas, esto es, baja permeabilidad y baja solubilidad. Utilizando concentraciones de sorbitol y proteína comprendidos entre 1,55% - 1,80% 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 y/o comestibles con propiedades adecuadas para su uso como envases y/o embalajes.

ABSTRACT

In this study were developed and evaluated films made from proteins extracted from Sacha Inchi cake, residue of the edible oil industry to take advantage of this high protein content (59.59 ± 0.84%). Various alkaline aqueous solutions and precipitation at the isoelectric point (pH ~ 4.5) were used to determine the conditions of maximum extraction of protein Sacha Inchi. The film forming solutions, consisting of proteins extracted and lyophilized, sorbitol and water were thermally treated (85°C/60 minutes) and dried (35 °C/18 hours) after casting on glass plates. The resulting films, conditioned at 53% RH / 25 ° C, were subjected to evaluation of their physical properties such as water solubility, permeability to water vapor, moisture content, thickness and color (ΔE*, L*, a *, b *), to determine how they are influenced by the protein concentration and sorbitol. Protein extraction at pH 12 showed a maximum yield (72.2 ± 1.43%), obtaining 28.39 ± 1.88% freeze dried proteins regarding to used cake with protein content equal to 89.1±0,88%. The films obtained were glossy on one side, transparent, flexible and yellow tones. Both protein concentration and sorbitol had significant effects on color (ΔE *, L *, and b *), water solubility, water vapor permeability and thickness. It was established the optimal combinations of protein and sorbitol to produce films with suitable physical properties, i.e., low permeability and low solubility of sorbitol by using sorbitol and protein concentrations ranging between 1.55%-1.80% and 8.2%-9,3%, respectively. These findings demonstrated that the proteins extracted from Sacha Inchi cake have great potential as forming material biodegradable/edible films for use as wrapping or packaging.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN 1
II. OBJETIVOS 2
2.1. Objetivo general 2
2.2. Objetivo específico: 2
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3
3.1. Antecedentes 3
3.1.1. Antecedentes en el ámbito nacional 5
3.1.2. Antecedentes en el ámbito internacional 8
3.2. Bases teóricas 13
3.2.1. Definiciones, funciones y justificación de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables 13
3.2.2. Composición 19
3.2.3. Mecanismos de formación 24
3.2.4. Propiedades 26
3.2.5. Viabilidad del sistema comercial 34
3.2.6. Tendencias de Investigación 34
IV. MATERIALES Y MÉTODOS 36
4.1. Lugar de ejecución 36
4.2. Materiales 36
4.2.1. Materia prima 36
4.2.2. Instrumentos y equipos 36
4.2.3. Materiales de laboratorio 37
4.2.4. Reactivos 37
4.3. Metodología 37
4.3.1. Acondicionamiento de la materia prima 37
4.3.2. Caracterización químico proximal de la torta de sacha inchi (TSI) y del aislado proteico de sacha inchi (APSI) 38
4.3.3. Efecto del pH en la extracción de proteína 39
4.3.4. Obtención del aislado proteico de sacha inchi 39
4.3.5. Preparación de la dispersión filmogénica y películas comestibles y/o biodegradables 41

4.3.6. Diseño estadístico experimental 43
4.3.7. Evaluación de las propiedades físicas de películas de aislado proteico de Sacha Inchi 44
4.3.8. Optimización de la permeabilidad al vapor de agua y la solubilidad 46
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES 47
5.1. Acondicionamiento de la materia prima 47
5.2. Caracterización química proximal de la torta de Sacha Inchi 47
5.3. Efecto del pH sobre el rendimiento de extracción de proteína 47
5.4. Caracterización química proximal del aislado proteico de sacha inchi 49
5.5. Diseño estadístico experimental 49
5.6. Evaluación de las propiedades físicas de las películas de APSI 52
5.6.1. Solubilidad (%) 52
5.6.2. Permeabilidad al Vapor de Agua (10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}) 54
5.6.3. Color 55
5.6.4. Contenido de humedad (%) 61
5.6.5. Grosor (µm) 63
5.7. Optimización de las películas de APSI 65
VI. CONCLUSIONES 67
VII. RECOMENDACIONES 68
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 69

ANEXOS

ANEXO A. Fotografías del proceso de obtención del aislado proteico 81
ANEXO B. Fotografías de la preparación de películas comestibles y/o biodegradables 85
ANEXO C. Fotografías de la evaluación de las propiedades físicas de las películas 88
ANEXO D. Curva Patrón de Proteína de Albúmina de Suero Bovino 89
ANEXO E. Análisis Estadístico del efecto del pH sobre el Rendimiento de Extracción de Proteína 90
ANEXO F. Reporte de Resultados de Permeabilidad al Vapor de Agua de películas biodegradables comestibles de proteína de Sacha Inchi según Norma ASTM E96 92
ANEXO G. Análisis de Varianza de las variables respuesta..... 97
ANEXO H: Gráficas de efectos principales 104

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Usos potenciales de proteínas para productos comestibles y/o biodegradables. 15
Tabla 2. Funciones posibles para películas y coberturas de proteínas. 18
Tabla 3. Plastificantes comúnmente usados en películas a base de proteínas. 23
Tabla 4. Propiedades de películas y coberturas proteicas y métodos para su determinación. 27
Tabla 5. Solubilidad de películas comestibles y/o biodegradables. 29
Tabla 6. Permeabilidad al Vapor de Agua de películas comestibles. 31
Tabla 7. Diferencia de color de películas comestibles. 33
Tabla 8. Tratamientos del estudio. 44
Tabla 9. Matriz de experimentos del diseño factorial 2^k 44
Tabla 10. Parámetros de color del plato de blanco estándar y del APSI liofilizado 46
Tabla 11. Composición química de la torta de Sacha Inchi en base seca. 47
Tabla 12. Rendimiento de extracción de proteína (%) en función del pH. 48
Tabla 13. Composición química del Aislado Proteico de Sacha Inchi en base seca 49
Tabla 14. Contenido proteico (% base seca) del APSI y otros aislados proteicos 49
Tabla 15. Matriz de experimentos del diseño central compuesto 50
Tabla 16. Coeficientes de regresión y análisis de varianza para las variables respuestas 51
Tabla 17. Color de las películas producidas en escala decreciente de su diferencia de color. 56
Tabla 18. Contenido de Humedad (%) de algunas películas comestibles. 62
Tabla 19. Concentración de Proteína vs Absorbancia 89
Tabla 20. Resumen estadístico para el rendimiento de extracción de proteína. 90
Tabla 21. Análisis de Varianza para el Rendimiento de Extracción de Proteína. 90
Tabla 22. Resumen del Modelo. 90

Tabla 23. Comparación de medias con método de Tukey. 90
Tabla 24. Contrastes de Tukey. 90
Tabla 25. Prueba de Levene. 91
Tabla 26. Grosor promedio de películas ensayadas. 92
Tabla 27. Valores de permeancia de películas ensayadas. 92
Tabla 28. Valores de permeabilidad de películas ensayadas. 92
Tabla 29. Análisis de varianza de la variable solubilidad (%). 97
Tabla 30. Estadísticos importantes de la variable solubilidad (%). 97
Tabla 31. Análisis de varianza de la variable PVA. 98
Tabla 32. Estadísticos importantes de la variable PVA. 98
Tabla 33. Análisis de varianza de diferencia de color (ΔE*). 99
Tabla 34. Estadísticos importantes de la variable ΔE*. 99
Tabla 35. Análisis de Varianza de la variable Claridad (L*). 100
Tabla 36. Estadísticos importantes de la variable L*. 100
Tabla 37. Análisis de ajuste de la variable a*. 100
Tabla 38. Análisis de varianza de la variable b*. 101
Tabla 39. Estadísticos importantes de la variable b*. 101
Tabla 40. Análisis de varianza de la variable contenido de humedad. 102
Tabla 41. Estadísticos importantes de la variable contenido humedad. 102
Tabla 42. Análisis de varianza de la variable grosor. 103
Tabla 43. Estadísticos importantes de la variable grosor. 103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Progreso en el estudio de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables desde 1946-2014.....3
Figura 2. Cantidad de trabajos de investigación realizados por país. 4
Figura 3. Funciones de películas y coberturas comestibles.....17
Figura 4. Materiales biopoliméricos usados en formulaciones de películas y coberturas.....19
Figura 5. Varias maneras de modificar las características de películas y coberturas comestibles.....25
Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de aislado proteico de Sacha Inchi a partir de la torta.....40
Figura 7. Diagrama de flujo para la obtención de películas biodegradables comestibles de aislado proteico de Sacha Inchi 42
Figura 8. Diseño Central Compuesto del Experimento. 43
Figura 9. Curva de rendimiento de extracción de proteína 48
Figura 10. Superficie de Respuesta para la variable Solubilidad 53
Figura 11. Superficie de Respuesta para la variable PVA 55
Figura 12. Superficies de respuesta para la diferencia de color (ΔE*) 58
Figura 13. Superficies de respuesta para la Claridad (L*) 59
Figura 14. Superficie de Respuesta para b* 61
Figura 15. Superficie de Respuesta para la variable grosor 64
Figura 16. Superposición de las gráficas de contorno de las variables PVA y solubilidad (%) 65
Figura 17. Curva patrón de proteína de albúmina de suero bovino 89
Figura 18. Intervalos de confianza de Tukey. 91
Figura 19. Curva de los datos ajustados del tratamiento 1. 93
Figura 20. Curva de los datos ajustados del tratamiento 2. 93
Figura 21. Curva de los datos de los ajustados del tratamiento 3. 93
Figura 22. Curva de los datos ajustados del tratamiento 4. 94
Figura 23. Curva de los datos ajustados del tratamiento 5. 94
Figura 24. Curva de los datos ajustados del tratamiento 6. 94
Figura 25. Curva de los datos ajustados del tratamiento 7. 95

Figura 26. Curva de los datos ajustados del tratamiento 8. 95
Figura 27. Curva de los datos ajustados del tratamiento 9. 95
Figura 28. Vapómetro empleado en el ensayo de determinación de permeabilidad al vapor de agua. 96
Figura 29. Ensamblaje del vapómetro para la medición de la permeabilidad al vapor de agua. 96
Figura 30. Gráfica del efecto principal Sor sobre la diferencia de color (ΔE*). 104
Figura 31. Gráfica de efecto principal APSI sobre la diferencia de color (ΔE*). 104
Figura 32. Gráfica de efecto principal APSI sobre la claridad (L*) de las películas.....105
Figura 33. Gráfica de efecto principal Sor sobre la claridad (L*) de las películas.....105
Figura 34. Gráfica de efecto principal APSI sobre b* de las películas. 106
Figura 35. Gráfica de efecto principal Sor sobre b* de las películas. 106
Figura 36. Gráfica de efecto principal % APSI sobre el % Solubilidad. 107
Figura 37. Gráfica de efecto principal % Sor sobre el % Solubilidad. 107
Figura 38. Gráfica de efecto principal APSI sobre la PVA de las películas. 108
Figura 39. Gráfica de efecto principal Sor sobre la PVA de las películas. 108
Figura 40. Gráfica de efecto principal APSI sobre el grosor de películas. 109
Figura 41. Gráfica de efecto principal Sor sobre el grosor de películas. 109

ÍNDICE DE FOTOS

Foto 1. Torta de Sacha Inchi molida y tamizada. 81
Foto 2. Solubilización de la proteína de Sacha Inchi en medio alcalino. 81
Foto 3. Mezcla obtenida luego del proceso de solubilización. 81
Foto 4. Separación de la proteína solubilizada (sobrenadante) y del residuo (sedimento). 82
Foto 5. Sobrenadante obtenido. 82
Foto 6. Precipitación isoeléctrica de las proteínas a partir del sobrenadante. 82
Foto 7. Formación del precipitado proteico tras alcanzar el punto isoeléctrico. 83
Foto 8. Separación del precipitado mediante centrifugación. 83
Foto 9. Precipitado acondicionado para ser congelado. 83
Foto 10. Liofilizador LABCONCO utilizado para deshidratar el aislado proteico. 84
Foto 11. Aislado proteico de Sacha Inchi liofilizado 84
Foto 12. Películas obtenidas en el primer proceso exploratorio de las condiciones para su formación. 85
Foto 13. Películas obtenidas en el segundo proceso exploratorio de las condiciones para su formación. 85
Foto 14. Películas obtenidas en el tercer proceso exploratorio de las condiciones para su formación. 86
Foto 15. Películas obtenidas utilizando las condiciones experimentales descritas. 87
Foto 16. Equipos utilizados para determinar la permeabilidad al vapor de agua de las películas de APSI. 88
Foto 17. Micrómetro utilizado para la determinación del grosor de las películas de APSI. 88
Foto 18. Cromámetro utilizado para determinar el color de las películas de APSI. 89

I. INTRODUCCIÓN

La sociedad humana se ha beneficiado grandemente con el uso de plásticos debido a su extraordinaria versatilidad y facilidad de producción. Sin embargo, su prosperidad trajo consigo el agotamiento de los combustibles fósiles y efectos adversos en el ambiente. Para minimizar estas consecuencias indeseables, los científicos han encontrado nuevas fuentes de plásticos biodegradables cuya producción se realiza a partir de recursos renovables. Esto ha conducido al desarrollo de plásticos biodegradables, es decir, hechos a partir materiales de origen biológico, los cuales ayudan a reducir la dependencia de los polímeros fósiles, reducir la acumulación de residuos plásticos persistentes, y mejorar el control de emisiones de CO_2 en el ambiente.

En la región San Martín la generación y acumulación de residuos sólidos no biodegradables es un problema que requiere solución. Pese a que en la región se cuenta con una gran variedad de materias primas que pueden ser utilizadas en la producción de plásticos de origen biológico y películas comestibles, tales como subproductos de la industria aceitera, específicamente de la torta de Sacha Inchi.

En el presente trabajo de investigación se busca elaborar películas comestibles con adecuadas características físicas utilizando torta de sacha Inchi y sorbitol. Contribuyendo de esta manera, al uso integral de los subproductos agroindustriales generados por la industria aceitera en la región San Martín, y a la disminución de basura no biodegradable que contamina y agrede al medioambiente.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Obtener películas biodegradables y/o comestibles a partir de proteínas extraídas de la torta de Sacha Inchi.

2.2. Objetivo específico:

Extraer las proteínas de la torta de Sacha Inchi utilizando la extracción alcalina y la precipitación en el punto isoeléctrico.

Evaluar el efecto de la concentración de las proteínas extraídas de la torta de sacha Inchi y sorbitol en las propiedades físicas de las películas biodegradables comestibles.

Determinar condiciones óptimas para producir películas con adecuadas características físicas.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Antecedentes

Desde hace aproximadamente 60 años se viene llevando a cabo trabajos de investigación y desarrollo en películas y coberturas comestibles y/o biodegradables a partir de materiales de origen animal y vegetal (Krochta, 2002).

En la Figura 1 se observa que el número de trabajos de investigación y desarrollo en películas y coberturas comestibles y/o biodegradables se ha ido incrementando progresivamente desde el año 1946 hasta 2014 (Elsevier, 2015).

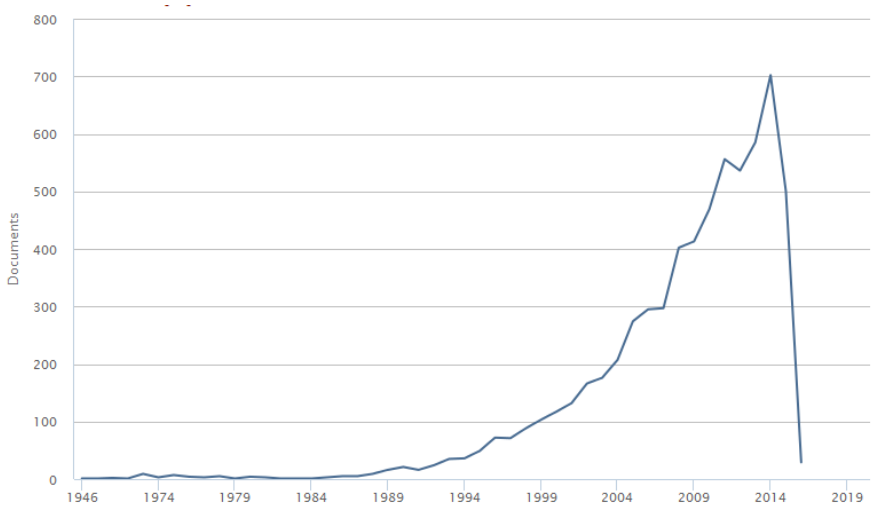

Figura 1. Progreso en el estudio de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables desde 1946-2014. Fuente: Elsvier, (2015).

Elsevier (2015) manifiesta que en el mismo periodo de 1946 al 2014, los países que llevaron a cabo más trabajos de investigación y desarrollo de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables fueron Estados Unidos, China, Japón y Brasil. Mientras que Perú solo participó con cinco trabajos de investigación publicados en revistas indizadas: (Tommonaro, et al., 2007); (Mendieta-Taboada, et al., 2008); (Silva, et al., 2008); (Mendieta-Taboada, et al., 2008); (Torres, et al., 2011) (Ver Figura 2).

Los primeros estudios acerca del uso de materiales agropecuarios para el desarrollo de películas y coberturas datan de la década del año 1950 (Waller, et al., 1953).

Desde entonces, varios investigadores han propuesto materiales, propiedades y aplicaciones potenciales de películas y coberturas comestibles; películas y coberturas biodegradables, o películas y coberturas biodegradables y comestibles. Varias revisiones se han enfocado exclusivamente en proteínas, polisacáridos, o lípidos y resinas.

En el ámbito nacional un poco más de la mitad de los trabajos de investigación y desarrollo está orientada a evaluar el desempeño de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables sobre productos alimentarios o fármacos. El resto busca caracterizar películas y coberturas obtenidas a partir de materiales agropecuarios.

A continuación se presentan trabajos de investigación llevadas a cabo en el ámbito nacional e internacional. Los antecedentes presentados en el ámbito nacional son todos los que el autor de esta tesis ha podido recopilar del tema, ya sean de aplicación y desarrollo. Mientras que los antecedentes en el ámbito internacional sólo abarcan aquellos que tratan sobre el efecto de la concentración de proteína y plastificante sobre las propiedades de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables.

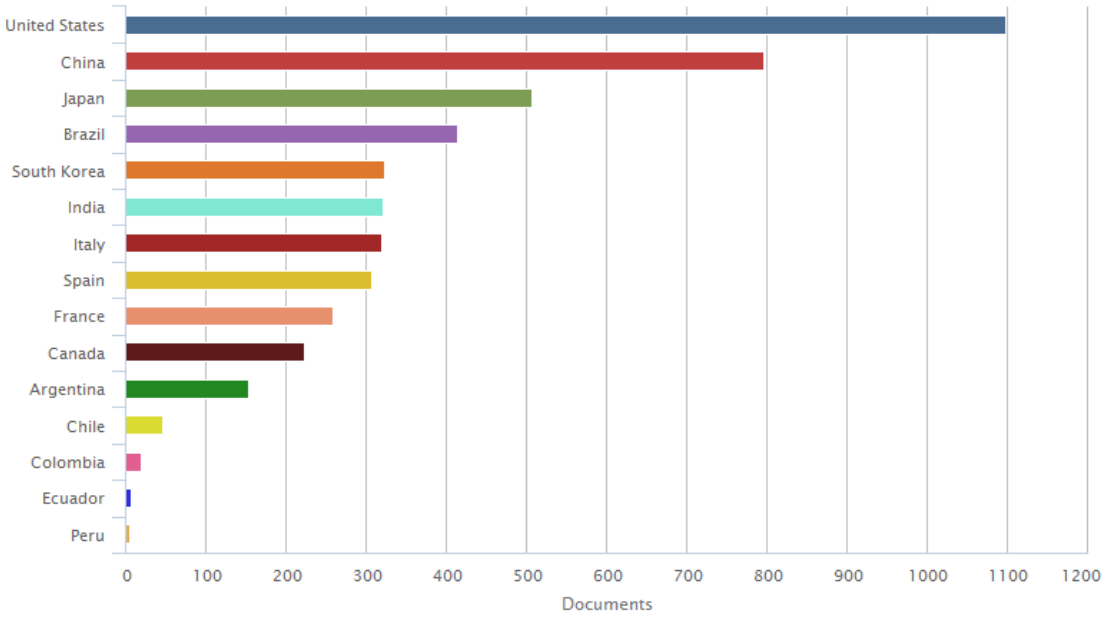

Figura 2. Cantidad de trabajos de investigación realizados por país.

Fuente: Elsevier B.V., (2015).

3.1.1. Antecedentes en el ámbito nacional

3.1.1.1. Desarrollo y caracterización de películas y coberturas

Carcausto-Dávila (2004) de la Universidad Nacional Agraria La Molina evaluó las propiedades físico-químicas y mecánicas de películas obtenidas a partir de concentrado de lactosuero y gluten de trigo.

León, et al., (2007) del Instituto Peruano de Energía Nuclear prepararon películas de alcohol polivinílico (PVA), quitosano-PVA y quitosano-PVA dopadas con TiO_2 para evaluar sus propiedades antimicrobianas frente a cepas bacterianas de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Observaron que estas películas no tienen actividad frente a estos microorganismos, pero si actúan como una barrera microbiana eficaz.

Fuentes, et al., (2009) de la Pontifica Universidad Católica del Perú (PUCP) desarrollaron películas de quitosano a partir de desechos de calamar gigante (*Dosidicus gigas)* y evaluaron sus propiedades físicas, mecánicas, de biocompatibilidad y de bioadhesión para su uso en tratamiento de heridas por quemaduras. Determinaron que las películas quitosano-NaOH muestran buenas propiedades mecánicas, bioadhesivas, baja irritación y adecuada permeabilidad lo cual las hace aptas como apósitos.

Torres, et al., (2011) de la PUCP obtuvieron películas de almidón extraído de 12 diferentes cultivos andinos y determinaron su biodegradabilidad y sus propiedades mecánicas. Observaron que las propiedades mecánicas de las películas dependen de la fuente de almidón usado para su producción; todas las películas se degradan en un proceso de tres etapas; y que la tasa de pérdida de peso de las películas es más alta que la película de celulosa utilizada como control.

Troncoso (2011) de la PUCP desarrolló un proceso para la fabricación de armazones porosos para su aplicación en Ingeniería de Tejidos, usando polímeros naturales biodegradables y una técnica de calentamiento por microondas. Los polímeros utilizados fueron almidón de tres tipos: papa, maíz y camote. Estudió la influencia de los parámetros de proceso de manufactura (temperatura, tiempo, composición de la muestra, etc.) sobre las propiedades del producto final.

Salazar, et al., (2013) de la Universidad Nacional de Ingeniería, despolimerizaron quitosano y obtuvieron quitosanos con pesos moleculares comprendidos entre 133,37 y 554,22 kDa. Después prepararon películas de

quitosano cargadas con antocianinas y reticuladas con tripolifosfato (TPP) y las caracterizaron usando espectroscopía infrarroja (FTIR), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Termogravimetría y grado de hinchamiento, demostrando que el TPP reacciona electrostáticamente con el quitosano, manteniendo las antocianinas dentro de la matriz polimérica.

Martínez-Pajuelo (2015) de la PUCP preparó películas de almidón de papa blanca reforzadas con nanopartículas de almidón de papa amarilla y evaluó sus propiedades mecánicas, térmicas y estructurales. Los resultados del reforzamiento mostraron un mejoramiento en las propiedades mecánicas y térmicas; junto con un cambio en la vibración de grupos funcionales en las películas, vinculado a la adición de las nanopartículas.

3.1.1.2. Aplicación de películas y coberturas

León, et al., (2007) del Instituto Peruano de Energía Nuclear, evaluaron la actividad antimicrobiana u antioxidante de sangre de grado (*Croton lechieri*) en polvo tratada con radiación gamma. La actividad antioxidante se determinó en el polvo de sangre de grado irradiado por el método de neutralización del radical libre. Para evaluar la propiedad antimicrobiana de la sangre tratada utilizaron películas de quitosano-PVA con extracto hidroalcohólico de sangre de grado irradiado y el método de difusión en agar de Kirby-Bauer. Los autores concluyeron, por un lado, que la propiedad antioxidante disminuye con el incremento de la dosis de irradiación y, por otro lado, que existen propiedades antimicrobianas de las películas de quitosano-PVA embebidas en extracto hidroalcohólico de sangre de grado.

Arroyo-Portal, et al., (2010) evaluaron el efecto sinérgico de tres solutos (NaCl, sacarosa, fosfato, tricálcico) sobre la humedad, ganancia de sólidos y ganancia de calcio en la deshidratación osmótica de oca con y sin recubrimiento de quitosano (quitosano, ácido cítrico, ácido oleico). Concluyeron que el recubrimiento permite mayor difusión de agua, menor ganancia de sólidos y mayor ganancia de calcio.

Rojas, et al., (2011) del Instituto Peruano de Energía Nuclear, evaluaron el efecto cicatrizante de películas de quitosano-alcohol polivinílico embebidas con extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) (EHT). Mediante la evaluación in vivo de cicatrización y estudio histológico en conejos se determinó

que la película de quitosa-PVA con extracto hidroalcohólico muestra actividad cicatrizante.

Torres, et al., (2011) de la PUCP evaluaron películas elaboradas a partir de 17 amiláceos andinos para su uso como materiales biomédicos realizando ensayos de biocompatibilidad y proliferación celular mediante la siembra de células fibroblast 3T3. Determinaron que las películas hechas de almidón de “tunta” (*Solanum ajahuiri*), de papa “muro-huayro” (*Solanum tuberosum sbsp. tuberosum*) y zanahoria blanca mostraron los más altos niveles de células vivas y viabilidad celular. Concluyeron que los almidones andinos son aconsejables para producir películas biocompatibles.

Aredo, et al., (2013) de la Universidad Nacional de Trujillo, evaluaron el rendimiento de dos tipos de recubrimientos (almidón y pectina) en términos de transferencia de masa durante la deshidratación osmótica de olluco. Los autores concluyeron que el recubrimiento de pectina generó menor ganancia de sólidos y menor deshidratación en comparación con las muestras sin recubrimiento y con recubrimiento de almidón.

Sánchez-Rivera (2014) de la Universidad Privada Antenor Orrego-Trujillo, evaluó el efecto de la aplicación de coberturas biodegradables y temperatura sobre el color, firmeza, pérdida de peso, y aceptabilidad de almacenamiento de palta (*Persea americana* Mill) variedad fuerte. Mediante ensayos de firmeza, pérdida de peso, aceptabilidad y determinación del color de las paltas, cubiertas con películas de gel aloe vera o gelatina-almidón-glicerol-extracto-EHT, comprobó que esta última combinación y la temperatura de 6°C produjeron los mejores parámetros de color L*, a* y b* en la cáscara y pulpa de palta; mientras que la cobertura de gel aloe vera a 6°C permitió la mayor retención de la firmeza.

Silva-Gil, et al., (2014) de la Universidad Nacional de Trujillo, evaluaron el efecto de los pretratamientos, aplicados a cada trozo de papa, sobre la absorción de grasa, difusividad efectiva, constante de transferencia de masa y variación de color después del proceso de fritura. Los pretratamientos fueron cuatro: T1 = papa sin tratamiento, T2 = papa más deshidratación osmótica (D.O.) (solución salina), T3 = papa más cobertura y T4 = papa más D.O. y cobertura. La cobertura estuvo compuesta por CMC, pectina y goma xantana. Una conclusión importante fue que la cobertura produjo una menor absorción de grasa total y menor variación.

3.1.2. Antecedentes en el ámbito internacional

Gennadios, et al., (1994) evaluaron la permeabilidad al vapor (WVP) de agua a 5, 15, 25, 35°C y a 100-50% y 100-70% de gradiente de humedad relativa (HR), de películas hechas a partir de gluten de trigo y aislado proteico de soya. Observaron que la WVP depende de la gradiente de humedad y de la temperatura. Concluyeron que las WVP de ambas películas de proteína aumentaron con una menor gradiente de humedad relativa (100-70%) y disminuyó con el incremento de la temperatura.

McHugh, et al., (1994) desarrollaron un enfoque integrado para evaluar la permeabilidad al oxígeno y las propiedades de tracción de películas comestibles hechas de proteína de lactosuero plastificadas con glicerol o sorbitol. El glicerol causó mayores incrementos de la permeabilidad al oxígeno que el sorbitol. El aumento de la concentración de ambos plastificantes produjo un decremento significativo de la resistencia a la tracción y un incremento de la elongación. El sorbitol resultó más efectivo que el glicerol como plastificante en aquellas películas de igual resistencia a la tracción, elongación, y módulo elástico ya que tuvo menor permeabilidad al oxígeno.

Gennadios, et al., (1996) evaluaron el efecto de la concentración de sólidos de yema de huevo y de la concentración de plastificantes (glicerina, polietilenglicol, o sorbitol) sobre las propiedades de películas hechas a partir de soluciones acuosas alcalinas de albúmina de huevo. Las propiedades evaluadas fueron, resistencia a la tracción (TS), elongación a la ruptura (E), permeabilidad al vapor de agua (WVP), y valores de color Hunter. Observaron que a una concentración de plastificante de 50% w/w de proteína, el sorbitol tuvo el menor valor de WVP mientras que las películas con PEG tuvieron altos valores de E. Las películas plastificadas con sorbitol y PEG tuvieron valores más altos de TS que con glicerol. Los sólidos de la yema de huevo disminuyeron la TS, E y la WVP mientras que aumentaron el color amarillo de las películas.

Cuq, et al., (1997) estudiaron el efecto de la humedad relativa y la temperatura sobre las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua de películas hechas de proteína miofibrilar de pescado. Tras la construcción de isotermas de adsorción de las películas a tres diferentes temperaturas se observó que la cantidad de agua adsorbida es menor a temperaturas altas y que altos valores de a_w cambian

rápidamente las propiedades funcionales de las películas, debido a los puentes de hidrógeno entre el polímero y el agua. Este efecto fue explicado por el incremento del contenido de agua y el hinchamiento de los polímeros hidrofílicos y por el incremento del volumen libre de la red con el agua, lo cual mejora la difusión molecular y la transferencia a través de la película.

Chick, et al., (1998) tras estudiar el efecto de la relación proteína-plastificante y tipo de plastificante sobre la resistencia a la tracción, porcentaje de elongación, permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua de películas comestible de ácido láctico y caseína precipitada con cuajo, determinaron que la películas plastificadas con sorbitol fueron más efectivas como barreras a la humedad y al oxígeno que las películas plastificadas con glicerol.

Handa, et al., (1999) elaboraron películas plastificadas con polietilenglicol a partir de soluciones acuosas alcalinas (pH 10,5; 11,0 o 11,5) de clara de huevo (SFP) con o sin calentamiento (40°C por 30 min). Y antes del casting, midieron la concentración de grupos sulfhidrilos (SH) y encontraron que éstos se incrementaron tras el ajuste del pH y el calentamiento, probablemente debido a la desnaturalización de la proteína y la división de los enlaces disulfuros (S-S). Además correlacionaron la concentración de los grupos SH con la resistencia a la tracción ($r = 0{,}70$), elongación a la ruptura ($r = 0{,}86$) y materia soluble total de las películas ($r = -0{,}94$). Con respecto a la materia soluble, los autores arguyeron que, a medida que el número de grupos sulfhidrilos superficiales se incrementó, más enlaces covalentes S-S se formaron durante el secado de SFP. Probablemente, estos enlaces S-S reticularon la red de la película haciendo que los grupos hidrofílicos de las cadenas proteicas estén menos accesibles al agua.

Roy, et al., (1999) luego de estudiar el efecto del calentamiento (55, 75 o 95°C por 10 min) de las soluciones formadoras de películas, a base de gluten de trigo y glicerol, determinaron que la solubilidad de la proteína de las películas disminuyó con el incremento de la temperatura de calentamiento.

Pérez-Gago, et al., (1999) investigaron cómo se relaciona el pH de las soluciones formadoras de película con la PVA de películas hechas con una emulsión de aislado proteico de lactosuero (WPI) y cera de abeja. Observaron que cuando el pH de solución formadora de película disminuye, la PVA de la película

resultante aumenta. Lográndose la máxima y mínima permeabilidad al punto isoeléctrico y a pH 7, respectivamente.

Anker (2000) determinó que la microestructura de las películas hechas con proteína de lactosuero depende de la concentración de la proteína, los plastificantes y el pH. De este modo, cuando la concentración de proteínas aumentó se formó una estructura más agregada con una red proteica más densa y grandes poros. Esto resultó en un aumento de la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno. Por otro lado, cuando se utilizó glicerol como plastificado en vez de sorbitol, el contenido de humedad y la PVA se duplicó.

Monterrey-Quintero, et al., (2000) elaboraron y caracterizaron películas hechas con proteína miofibrilar de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus)* y descubrieron que las películas no fueron muy solubles (menos de 20 g/100 g de materia seca) y que el glicerol influenció fuertemente sobre las propiedades mecánicas y la solubilidad de las películas.

Sobral, et al., (2001) obtuvieron películas de gelatina plastificadas con crecientes cantidades de sorbitol y como era de esperar la PVA se incrementó con el contenido de sorbitol.

Tanaka, et al., (2001) estudiando los efectos de dos plastificantes (glicerol y polietilenglicol) sobre las propiedades mecánicas y la permeabilidad al vapor de agua de películas hechas con proteínas de pescado solubles en agua, determinaron que a medida que la concentración de glicerol aumenta, la resistencia a la tracción decrece con el concomitante incremento de elongación a la ruptura y la permeabilidad al vapor de agua.

Choi, et al., (2001) produjeron películas comestibles a partir de concentrado proteico de arveja y glicerol. Y observaron que incrementando la concentración de plastificante en la película, la resistencia a la tracción y el módulo elástico disminuyeron mientras que la elongación y la permeabilidad al vapor de agua se incrementaron. Además la solubilidad de la película no fue afectada significativamente por la cantidad de plastificante.

Fang, et al., (2002) evaluaron el efecto de la proporción de proteína de lactosuero, calcio, glicerol y la incorporación de gotas de emulsión sobre la tracción y propiedades de barrera de películas a base de aislado proteico de lactosuero. Determinaron que la proporción de proteína tuvo menos influencia sobre la

resistencia a la tracción, elongación y permeabilidad al vapor de agua que las proporciones de glicerol e ion calcio.

Kim, et al., (2003) aplicaron metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto de las concentraciones de cera de sorgo, sorbitol y glicerina sobre las propiedades físicas de películas a base de aislado proteico de soya (SPI). Determinaron que todas las variables afectan significativamente la PVA, la TS y E, la diferencia del color total y la materia soluble total (TSM). Y que a medida que la concentración de sorbitol se incrementa en las películas compuestas, la permeabilidad al vapor de agua también aumenta. Además el sorbitol tuvo un punto crítico de 2 - 5 g/5 g de SPI para bajos valores de TSM. Concluyeron que la adición de sorbitol contribuyó más a las propiedades de la película que lo que hizo la glicerina.

Hernández-Muñoz, et al., (2003) extrajeron dos fracciones de la proteína de trigo: gliadinas y gluteninas; e hicieron películas con cada una de ellas utilizando glicerol como plastificante. Evaluaron las características de cada una de ellas y determinaron que las películas obtenidas a partir de glutenina presentaron más altos valores de TS y valores más bajos de E y PVA que las películas de gliadina. Por último, concluyeron que la concentración de glicerol modificó en gran manera las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua de ambos tipos de película.

Paschoalick, et al., (2003) evaluaron el efecto del contenido de glicerina (15-65 g/100 g de proteína) y el tratamiento térmico (40, 65 y 90 °C/30 min) sobre la PVA, el color y opacidad, las propiedades mecánicas y viscoelásticas de películas hechas con proteína de músculo de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Observaron que la permeabilidad al vapor de agua se incrementó con la concentración de glicerina y que un incremento en la temperatura del tratamiento térmico de la solución filmogénica también causó un incremento en la PVA. Por otro lado, la opacidad y el color decrecieron con el contenido de glicerina y fue proporcional a la temperatura del tratamiento térmico.

Sothornvit, et al., (2003) hicieron películas hechas de aislado proteico de lactosuero (WPI) usando moldeo por compresión. Las películas hechas con mezclas agua-WPI fueron quebradizas e insolubles y tuvieron valores de PVA independientes del contenido inicial de agua en la mezcla agua-WPI (30-50%),

temperatura de moldeo (104-160°C por 2 min), o presión de moldeo. Las películas de glicerol-WPI producidas a 104°C fueron flexible y parcialmente solubles, mientras que las producidas a 140°C fueron también flexibles pero casi insolubles. El contenido de glicerol, la temperatura y presión de moldeo tuvieron un pequeño efecto sobre los valores de PVA en el rango de condiciones estudiadas.

Bozdemir, et al., (2003) evaluaron las propiedades de barrera de películas preparadas de goma de algarrobo (polímero polisacárido) y varios plastificantes (glicerol, propilenglicol, sorbitol y polietilenglicol 200) junto con modificadores hidrofóbicos (estearopteno y cera de abejas). Determinaron que las películas que contienen polietilenglicol 200 (PEG 200) y sorbitol tiene los valores de permeabilidad más bajos y que las películas con glicerol tiene los valores de PVA más altos. Comprobaron que las películas comestibles basadas en polisacáridos tienen valores de PVA más altos que aquellas basadas en lípidos y proteínas.

Sothornvit (2005) evaluó la formación y propiedades de películas hechas con diferentes fuentes de proteína, y glicerol; y determinó que el pH óptimo para formar las películas de proteína de lactosuero (WP), soya (SP) y clara de huevo (EWP) son 6,5-7,5; 7,0-7,4 y 12, respectivamente. Además el contenido de glicerina, el tipo de proteína y la temperatura de secado influyeron sobre la permeabilidad al vapor de agua (PVA). Aumentando el glicerol aumenta la movilidad de las moléculas de proteína e incrementa la permeabilidad; mientras que el aumento de la temperatura ocasiona la desnaturalización de proteína, lo cual induce redes ajustadas y reduce la permeabilidad de la película. Las películas de EWP confirieron los más altos valores de PVA, seguidos por SP y WP. Todas las películas mostraron transparencia y la gradiente de la apariencia amarilla dependió del tipo de proteína y la temperatura de secado.

Schou, et al., (2005) evaluaron la influencia de la relación glicerol: proteína (0; 0,8; 0,16; 0,24 o 0,32) sobre las propiedades físicas y mecánicas de películas hechas con caseinato de sodio. La máxima carga, resistencia a la tracción y módulo elástico disminuyeron y el contenido de humedad aumentó significativamente con el incremento en el contenido de glicerol. Mientras que la elongación y la PVA de las películas aumento significativamente sólo en las relaciones 0,24 y 0,32.

Sobral, et al., (2005) evaluaron el efecto de la concentración de proteína (1 o 2 g/100 g de SFP) y glicerol (15-65 g/100 g de proteína) sobre el color, opacidad,

propiedades mecánicas y propiedades viscoelásticas de películas hechas con proteínas del músculo de Thai Tilapia. Concluyeron que, prácticamente, todas las propiedades estudiadas fueron afectadas por la concentración de glicerina; sin embargo, la concentración de proteína no fue evidente en todas las propiedades. El aumento de la concentración de glicerol causó la reducción en la diferencia de color debido al efecto de dilución de la glicerina, independientemente de la cantidad de proteína en la SFP. También pudieron concluir que las películas hechas con mayor contenido de proteína fueron más resistentes. Pero este comportamiento puede ser afectado por el plastificante.

Wan, et al., (2005) estudiaron cómo afecta la adición de un plastificante (propilenglicol [PG], polietilenglicol [PEG], sorbitol [SOR], o sacarosa [SUC] a un ratio de 25:75, 50:50, 75:25 y 0:100, plastificante:glicerol) sobre las propiedades mecánicas y de barrera al agua. Concluyeron que el tipo de plastificante así como la relación plastificante:glicerol afectan las propiedades antes mencionadas. La adición de tan solo 25% de un plastificante menos higroscópico en la mezcla, induce una reducción significante en la PVA. Sin embargo, al menos 50% de la mezcla necesita ser glicerol para mejorar significativamente la resistencia a la tracción.

Martelli, et al., (2006) elaboraron películas a partir de queratina obtenida de plumas de pollo, y evaluaron la influencia del tipo y concentración de plastificantes sobre la microestructura, isotermas de sorción y la permeabilidad al vapor de agua. Los resultados mostraron que el incremento de la concentración de plastificante causó una disminución en las propiedades de barrera y favoreció la adsorción de agua por la red polimérica, aumentando el contenido de humedad de las películas.

3.2. Bases teóricas

3.2.1. Definiciones, funciones y justificación de películas y coberturas comestibles y/o biodegradables

3.2.1.1. Películas versus coberturas

Las películas se pueden definir como una capa fina e individual de material polimérico que puede ser usado como empaque alimentario (Park, et al., 2014). Las películas son consideradas normalmente como independientes ya que son formadas de manera separada de cualquier uso posterior deseado. Estas películas

independientes también son usadas como estructuras de ensayo para la determinación de propiedades de barrera, mecánicas, de solubilidad y otras propiedades de un determinado material. Tales películas pueden ser usadas como cubiertas, envolturas o capas de separación; y pueden ser potencialmente formadas en bolsas, cápsulas, y revestimientos. Productos afines incluyen artículos moldeados de mayor grosor (Krochta, 2002).

Las coberturas implican la formación de películas directamente sobre la superficie del objeto que se intenta proteger o mejorar de alguna manera. En este sentido, las coberturas vienen a ser parte del producto y permanecen sobre el producto hasta su uso y consumo (Krochta, 2002).

La Tabla 1 resume los diferentes usos para películas y coberturas, distinguiendo entre productos comestibles y biodegradables.

3.2.1.2. Comestible versus biodegradable

Las películas y coberturas hechas de proteína son comestibles y/o biodegradables, dependiendo de la formulación, método de formación, y tratamientos de modificación. Siempre que se usen proteínas y otros aditivos de grado alimentario (por ejemplo, plastificantes, ácidos o bases, sales, y enzimas) y sólo ocurran cambios en las proteínas provocados por calentamiento, modificación de pH, adición de sal, modificación enzimática, y remoción de agua, las películas o coberturas resultantes serán comestibles (Krochta, et al., 1997).

Las películas y coberturas comestibles también son biodegradables. Sin embargo, la comestibilidad se pierde cuando la proteína reacciona con otros químicos antes o durante la formación de la película o cobertura (por ejemplo, injerto químico[1] o reticulación química[2]), o cuando componentes no comestibles se agregan a la película o cobertura. Las películas y coberturas biodegradables usadas para aplicaciones de empaque alimentario deben mostrarse seguras para tal uso (Krochta, et al., 1997).

[1] Reacción en la que una o más sustancias se conectan, como cadenas laterales, a la cadena principal de una macromolécula. Estas sustancias tienen características constitucionales o configuracionales diferentes de la cadena principal (International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014).

[2] Reacción donde unen químicamente dos o más moléculas por un enlace covalente. La modificación implica colocar o dividir grupos químicos para alterar la solubilidad u otras propiedades de la molécula original (Thermo Fisher Scientific, 2015)

Tabla 1. Usos potenciales de proteínas para productos comestibles y/o biodegradables.

Usos	Comestible	Biodegradable
Cubiertas, envolturas y capas separadoras para alimentos	X	X*
Fundas, contenedores y etiquetas para alimentos	X	X*
Coberturas de alimentos	X	
Microcápsulas de ingredientes alimentarios	X	
Coberturas de fármacos, cápsulas, y Microcápsulas	X	
Artículos desechables para el servicio de alimentos (platos, tazas, cubiertos)		X
Bolsas de basura (jardín, restaurante)		X
Bolsas solubles al agua para fertilizantes, pesticidas, etc.		X
Microcápsulas para fertilizantes, pesticidas, etc.		X
Mantillos agrícolas		X
Coberturas de papel		X
Embalaje de relleno		X
Productos médicos descartables (guantes, batas, etc.)		X
Pañales descartables		X

* Los artículos deben ser removidos antes de consumir el alimento.

Fuente: (Krochta, 2002)

El reto para las películas y coberturas para empaque alimentario y otros usos es que cumplan su función de manera segura y efectiva por el tiempo necesario. Solo después de que su uso funcional ha terminado debe proceder la biodegradación. Por la tanto, la película o cobertura es biodegradable porque puede ser degradado completamente por microorganismos, en un proceso de compostaje, a solo dióxido de carbono, agua, metano y algo de biomasa residual (Anónimo, 1993). Para permitir el proceso de biodegradación es necesario un ambiente cálido, húmedo, con apropiado pH, nutrientes, oxígeno, y tiempo para los microorganismos apropiados (Krochta, 2002).

3.2.1.3. Funciones de películas y coberturas comestibles

Por lo general, las películas y coberturas comestibles están destinadas para funcionar como una barrera a la humedad, oxígeno, sabores, aroma, y/o aceites, en consecuencia, mejoran la calidad y vida útil del alimento. Una película o cobertura comestible también puede proveer algo de protección mecánica para el alimento, reduciendo las magulladuras y roturas, mejorando la integridad de los alimentos (Ver Figura 3). Cuando una película o cobertura comestible provee una

barrera entre los componentes de un alimento heterogéneo de diferentes actividades de agua, contenidos de sabores, aromas, y/o aceites, la calidad y la vida útil del aumentan.

Cuando una película o cobertura previene el intercambio de humedad, oxígeno, aroma, o aceite entre el alimento y el ambiente, la calidad y la vida útil también aumentan. Sin embargo, cuando funciona de esta manera, las películas y coberturas no eliminan la necesidad del empaque protector no comestible. Sino, que trabajan junto con el empaque convencional para mejorar la calidad y vida útil del producto. De esta manera, la cantidad de empaque convencional puede ser reducido (reducción en la fuente), y reciclable (Krochta, 2002).

La función protectora de las películas y cobertura pueden mejorarse con la adición de antioxidantes o antimicrobianos. Dependiendo de la naturaleza del alimento, una cobertura comestible puede portar sabores, nutrientes, etc., para mejorar la calidad del alimento. Por último, una cobertura comestible puede aportar importantes atributos sensoriales a los alimentos, incluyendo brillo, color, y superficie no grasa ni pegajosa (Krochta, 2002). En la Tabla 2 se presentan las diversas funciones de películas y coberturas.

3.2.1.4. Justificación para el uso de películas y coberturas comestibles

Todo alimento sufre de al menos un problema de transferencia de masa, ya sea migración de humedad, intrusión de oxígeno, pérdida o ganancia de aromas, o migración de aceite. Dada la variedad de atributos de barrera que las películas y coberturas comestibles pueden proveer, los alimentos pueden beneficiarse con mejor estabilidad, textura, sabor, y aroma. La incorporación de antioxidantes y/o antimicrobianos que son de liberación controlada puede mejorar aún más la calidad del alimento (Krochta, 2002).

Muchos alimentos también sufren de roturas y desintegración en la fabricación, embalaje, transporte y uso. El alto rendimiento, manejo más fácil, y la mejor apariencia de las coberturas de refuerzo son potenciales ventajas adicionales. Por último, los consumidores a menudo asocian la calidad de los alimentos con un apropiado brillo, color, y sensación táctil; propiedades que las películas pueden afectar. Todas estas características son de una importancia aún mayor debido al

aumento de interés de consumidor en la calidad, variedad, y conveniencia (Krochta, 2002).

Al mismo tiempo, los procesadores de alimentos están interesados en mercados mundiales que demandan mayor vida útil y suministro de productos con un mínimo empaque, que en última instancia sea reciclable. Por consiguiente, estos factores se han combinado para encender el interés en explorar la formación de películas y las propiedades de barrera, mecánicas y sensoriales de proteínas y otros materiales (Krochta J. , 2002).

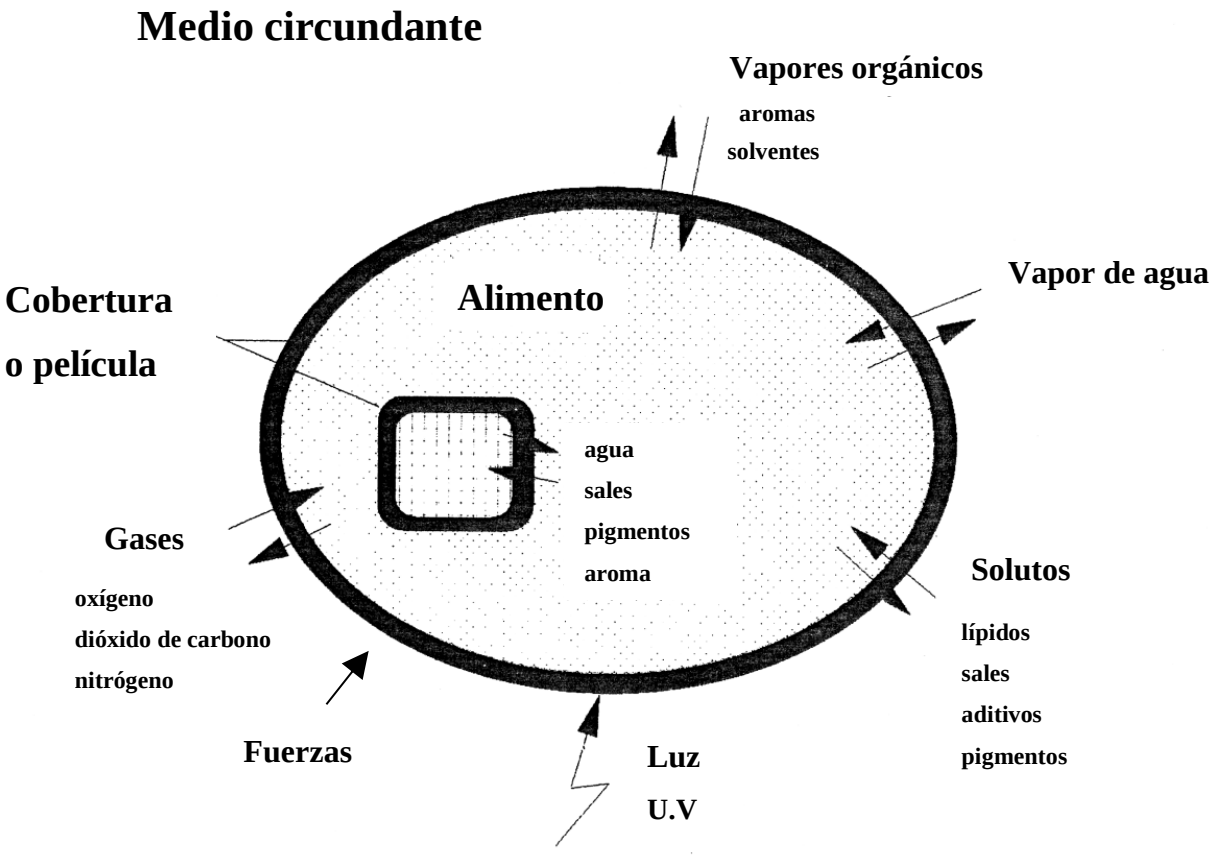

Figura 3. Funciones de películas y coberturas comestibles.
Fuente: (Debeaufort, et al., 1998).

Tabla 2. Funciones posibles para películas y coberturas de proteínas.

Usos	Comestible	Biodegradable
Barrera a la humedad, oxígeno, aroma, aceites, etc.	X	X
Portador de antioxidantes, antimicrobianos, etc.	X	X
Portador de sabor, color, nutrientes	X	
Resistencia a los esfuerzos mecánicos	X	X
Mejora la apariencia del producto (brillo, color, etc.)	X	

Fuente: (Krochta, et al., 2002)

3.2.1.5. Funciones de películas y coberturas biodegradables

Al igual que las películas y coberturas comestibles, las películas y coberturas biodegradables pueden funcionar como barreras a la humedad, oxígeno, aroma, y/o aceite, para proteger la calidad del alimento y otros productos de su entorno. En contraste con las películas y coberturas comestibles, el propósito de las películas y coberturas biodegradables es, en general, reemplazar totalmente el empaque sintético convencional u otros productos sintéticos convencionales. Una película biodegradable (e.g., una bosilta) o cobertura (e.g., sobre papel) puede también proporcionar algo de protección mecánica para un alimento, droga, u otro producto. Si un material biodegradable es moldeado en estructuras como cubiertos, platos, etc., tales artículos también deben tener apropiadas propiedades mecánicas. La función de las películas y coberturas biodegradables también pueden ser mejoradas con la adición de antioxidantes y antimicrobianos. Por último, los atributos sensoriales de películas y coberturas biodegradables, tales como transparencia, brillo, y color, también son importantes (Krochta, 2002).

3.2.1.6. Justificación para el uso de películas biodegradables

Cualquier reemplazo exitoso de películas y coberturas convencionales sintéticas por alternativas biodegradables reduce el uso de fuentes no renovables y reduce los residuos a través del reciclaje biológico (e.g., compostaje). El desarrollo exitoso de películas biodegradable para empaques u otras aplicaciones es más probable que ocurra cuando sea difícil recuperar energía o productos convencionales de polímeros sintéticos. Un ejemplo de dónde una alternativa biodegradable sería útil, es en buques, donde está prohibido verter residuos persistentes en el mar. También en municipios, donde hay un incremento de la recolección de basura para el compostaje municipal, el interés en embalajes biodegradables se incrementa. Muchas municipalidades también alientan el

compostaje doméstico a pequeña escala, incluso proporcionan el equipo necesario (Krochta, 2002).

3.2.2. Composición

3.2.2.1. Materiales formadores de películas y coberturas

Los materiales disponibles para formar películas y coberturas biodegradables normalmente comprenden a polímeros que deben degradarse por la acción de microorganismos (bacterias, hongos y algas) a través del proceso de compostaje para producir compuestos naturales desglosados tales como dióxido de carbono, agua, metano y biomasa. Hay dos tipos de polímeros biodegradables: aquellos que son comestibles y no comestibles. Los materiales biodegradables que son derivados de ingredientes alimentarios tales como polisacáridos, proteínas, lípidos y lípidos, son comestibles y han atraído mucho interés en los últimos años debido a su potencial capacidad para reemplazar los plásticos convencionales y actuar como películas y/o coberturas en contacto con los alimentos (Hanani, et al., 2014). En la Figura 4 se muestran los biopolímeros que tienen un potencial de uso en la fabricación de películas y coberturas.

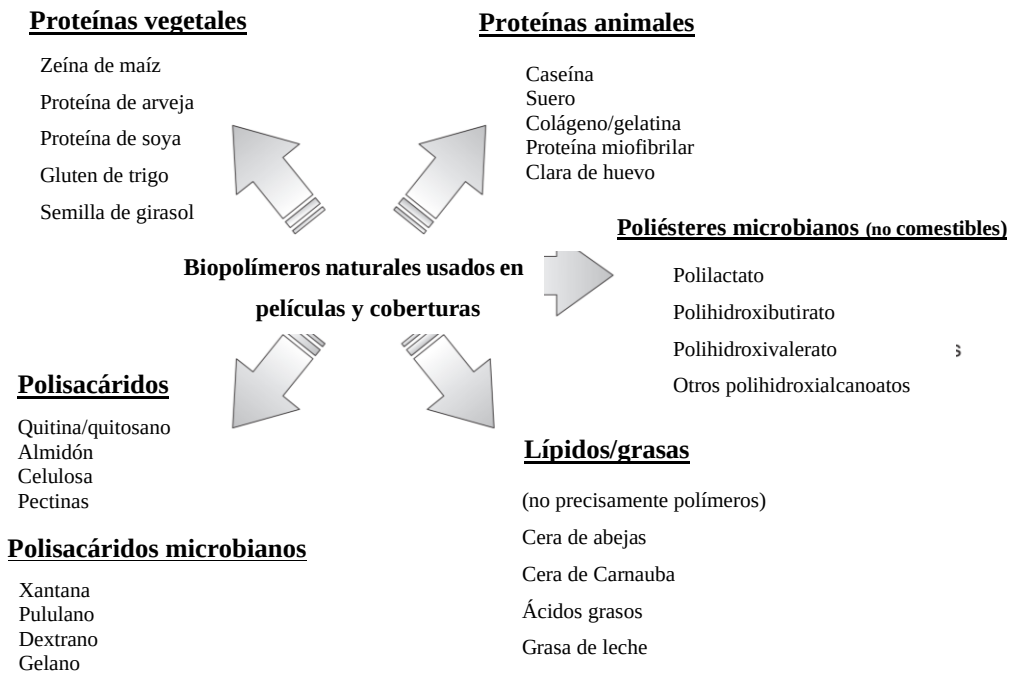

Figura 4. Materiales biopoliméricos usados en formulaciones de películas y coberturas.
Fuente: (Guérin-Dubiard, et al., 2007)

Los materiales formadores de películas y coberturas comestibles pueden ser hidrofílicos o hidrofóbicos, o ambos; sin embargo, para mantener su comestibilidad, los solventes usados pueden ser agua o etanol (Peyron, 1991).

A menudo se debe añadir un plastificante para reducir la fragilidad de la película o cobertura. También puede ser necesario añadir un agente de superficie activa para ayudar a la formación de la película o cobertura. Otros constituyentes pueden incluir antioxidantes y antimicrobianos para mejorar la efectividad de la película o cobertura. El Código de Reglamentaciones Federales de los Estados Unidos de Norteamérica (CFR) estipulan el uso aceptable de proteínas, polisacáridos, lípidos, resinas, plastificantes, emulsificantes, conservantes, y materiales antioxidantes (Baldwin, 1999).

Proteínas

Las proteínas abarcan una gran variedad de componentes poliméricos que proveen estructura y actividad biológica en plantas o animales. Las proteínas se distinguen de los polisacáridos porque ellas están basadas en aproximadamente 20 aminoácidos (monómeros), en vez de unos pocos monómeros, tales como la glucosa en el caso de celulosa y almidón. Los aminoácidos son similares en que contienen un grupo amino ($-NH_2$) y un grupo carboxilo (-COOH) unidos a un átomo de carbono central. Sin embargo, cada aminoácido tiene un grupo lateral diferente unido al carbono central que le da un carácter único al aminoácido. El grupo lateral puede ser no polar (hidrofóbico), polar sin carga (hidrofílico), cargado positivamente a pH 7, o cargado negativamente a pH 7 (Nelson, et al., 2005).

La mayoría de las proteínas contienen 100-500 residuos aminoacídicos. Dependiendo del orden secuencial de aminoácidos (estructura primaria de las proteínas), la proteína asumirá diferentes estructuras a lo largo de la cadena polimérica (estructura secundaria de la proteína), basada en enlaces van der Waals, hidrógeno, electrostáticos, hidrofóbicos, e interacciones de reticulación disulfuros entre las unidades de aminoácidos (Cheftel, Cuq, & Lorient, 1985). La estructura terciaria refleja cómo la estructura secundaria se organiza respecto a otra cadena polipeptídica, basada en los mismos tipos de interacciones, para formar estructuras globulares, fibrosas o aleatorias. Por último, las estructuras cuaternarias se producen cuando proteínas enteras interactúan con otras en asociaciones para proveer estructuras únicas o una determinada actividad biológica (Krochta, 2002).

Las estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias de las proteínas pueden ser modificadas por varios agentes físicos y químicos, incluyendo calor, tratamiento mecánico, presión, irradiación, interfaces de lípidos, ácidos y álcalis, e iones metálicos (Cheftel, et al., 1985). Tales agentes son a menudo usados en la formación de películas y coberturas para optimizar la configuración proteica, las interacciones y las propiedades de las películas (Krochta, 2002).

Polisacáridos

Los polisacáridos utilizados en la formación de películas incluyen almidón, carbohidratos no amiláceos, gomas, y fibras. Los polisacáridos tienen simples monómeros en comparación con las proteínas. Sin embargo, la conformación de su estructura es más complicada e impredecible, resultando en pesos moleculares mucho más grandes que las proteínas. La mayoría de carbohidratos son neutros, mientras que algunas gomas tienen carga negativa con casos muy excepcionales de carga positiva. Debido al gran número de grupos hidroxilos u otras fracciones hidrofílicas en la estructura neutral del carbohidrato, los enlaces de puente de hidrógeno cumplen el rol más significativo en la formación de la película y sus características. Algunas gomas cargadas negativamente, como el alginato, pectina y carboximetilcelulosa, muestran diferente comportamiento reológico en condiciones ácidas, así como en presencia de cationes multivalentes (Han, 2014).

Lípidos y resinas

Estos materiales también son usados como materiales formadores de películas, pero no son polímeros, y evidentemente, “biopolímeros” es un nombre incorrecto para ellos (Han, 2014).

Lípidos comestibles incluyen cera de abejas, cera de candelilla, cera de carnauba, triglicéridos (e.g., fracciones de grasa láctea), monoglicéridos acetilados, ácidos grasos, alcoholes grasos, y ésteres de sacarosa. Las resinas comestibles incluyen el shellac y resinas terpénicas. Debido a que los lípidos y resinas no son polímeros, ellos no forman películas independientes cohesivas. Sin embargo, además del brillo deseable que pueden proveer, estos materiales pueden ser usados para cubrir un alimento o superficies de fármacos para proporcionar una barrera a la humedad, o en películas compuestas para proporcionar una barrera a la humedad (Krochta, 2002).

Películas y coberturas compuestas

Los biopolímeros compuestos pueden modificar las propiedades de las películas y crear estructuras deseables para aplicaciones específicas. Películas de biopolímeros similares a películas plásticas compuestas multicapa pueden ser producidas como películas multicapas, tales como coberturas de proteína (o capas de películas) sobre películas de polisacáridos, o capas de lípidos sobre películas de proteína/carbohidrato. Estas estructuras multicapa optimizan las características de la película final. Las películas compuestas también pueden ser creadas mezclando dos o más biopolímeros, dando lugar a una película homogénea (Debeaufort et al., 1998; Were et al., 1999; Yildirim, et al., 1997). Varios polímeros pueden ser mezclado juntos para formar una películas con propiedades únicas que combinan los atributos más deseables de cada componente (Wu, et al., 2002).

3.2.2.2. Plastificantes

Las películas y coberturas de proteína son a menudo duras y quebradizas debido a grandes interacciones entre las cadenas proteicas a través de enlaces de puente de hidrógeno, fuerzas electrostáticas, enlaces hidrofóbicos, y/o reticulación disulfuro. A menudo se agregan plastificantes, hidrofílicos de pesos moleculares relativamente pequeños, los cuales compiten con las proteínas, principalmente por los puentes de hidrógeno y las interacciones electrostáticas. El resultado de la adición del plastificante es una reducción en las interacciones cadena-cadena de las proteínas, una disminución de la temperatura(s) de transición vítrea[3], y una mejora en la flexibilidad de la película (disminuyendo el módulo elástico de la película). También, un aumento de la elongación (elasticidad o ductilidad), y una disminución de la resistencia. Desafortunadamente, los plastificantes generalmente también disminuyen la capacidad de la película para actuar como una barrera a la humedad, oxígeno, aroma y aceites. Los plastificantes aceptables y generalmente usados para películas de proteína incluyen al glicerol, propilen glicol, sorbitol, sacarosa, polietilen glicol, ácidos grasos y monoglicéridos (ver Tabla 3). El agua es también un importante plastificante para las películas hechas de proteína. En

[3] La temperatura de transición vítrea (T_g) es la temperatura por debajo de la cual un sólido fundido y enfriado se torna en un sólido amorfo (no cristalino), duro y quebradizo como un cristal (International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014). La T_g es siempre más baja que la temperatura de fusión (T_m) del estado cristalino del material (Chawla, et al., 1993) y es característico de cada polímero (University of Southern Mississippi, 2005).

consecuencia, el contenido de humedad de la película, que es afectado por la humedad relativa (RH) del medio circundante, tiene un gran efecto sobre las propiedades de la película. La presencia de plastificantes hidrofílicos tales como el glicerol atrae humedad adicional e impacta sobre las propiedades de la película (Krochta, 2002).

Tabla 3. Plastificantes comúnmente usados en películas a base de proteínas.

Glicerol
Propilen glicol
Trietilen glicol
Sorbitol
Sacarosa
Polietilen glicol
Jarabe de maíz
Agua

Fuente: (Krochta, 2002) y (Han, 2014)

3.2.2.3. Emulsificantes

Los emulsificantes son componentes de superficie activa con carácter, tanto polar como apolar, los cuales son absorbidos en la interface lípido-agua y reducen la tensión superficial. Para producir películas compuestas de proteína-lípido o polisacárido-lípido a partir de una solución acuosa, a menudo es necesario añadir un emulsificante para permitir la dispersión del material lipídico en la solución. Además, para algunas aplicaciones de cobertura, la adición agentes de superficie activa puede ser necesario para lograr la humectación de la superficie y la extensión de la formulación de cobertura y luego la adhesión de la cobertura seca. Algunas proteínas tienen suficientes propiedades de superficie activa que no necesitan emulsificantes para formar películas compuestas bien dispersadas o proveer buena superficie de humectación y adhesión (Krochta, 2002).

3.2.2.4. Otros aditivos de películas y coberturas

Las películas y coberturas pueden portar diversos agentes activos, tales como, emulsificantes, antioxidantes, antimicrobianos, nutracéuticos, sabores, y colorantes y pueden mejorar la calidad y la seguridad del alimento, hasta el nivel donde los aditivos interfieren con las propiedades físicas y mecánicas de las películas (Han, 2014).

3.2.3. Mecanismos de formación

La formulación de las películas y coberturas requieren el uso de al menos un componente capaz de formar una matriz estructural con suficiente cohesividad. Las películas comestibles hechas con varias sustancias han sido perfeccionadas para contar con las propiedades funcionales de cada componente y minimizar sus desventajas. La mayoría de las películas compuestas estudiadas asocian un componente hidrofóbico, a menudo lípidos, y por lo general una matriz estructural hidrocoloidal (Debeaufort, et al., 1998).

Las sustancias formadoras de película son capaces de formar una estructura ininterrumpida mediante la interacción entre moléculas bajo la acción de un tratamiento físico o químico. La formación de una película o cobertura involucra uno de los siguientes procesos (Debeaufort, et al., 1998):

1. Fusión y solidificación de grasas sólidas, ceras y resinas,
2. Coacervación[4] simple donde un hidrocoloide disperso en una solución acuosa es precipitado o gelificado mediante la eliminación del solvente, la adición de un soluto no electrolito en el cual el polímero (hidrocoloide) sea insoluble, la adición de una sustancia electrolito para inducir una precipitación salina, o por la modificación del pH de la solución,
3. Coacervación compleja, donde dos soluciones de hidrocoloides, con cargas opuestas, se combinan para inducir interacciones y la precipitación de la mezcla polimérica,
4. Gelación térmica o coagulación térmica de la macromolécula en solución, lo cual involucra desnaturalización, gelificación, precipitación, o un rápido enfriamiento de la solución hidrocoloidal para inducir una transición sol-gel, por ejemplo.

El secado posterior de los hidrogeles elimina el exceso de solvente de la estructura del gel; por ejemplo, las películas de proteínas de lactosuero se elaboran por deshidratación después de la formación del gel usando calentamiento o enfriamiento. Esto no significa que el mecanismo formador de película durante el

[4] En sistemas coloidales, la coacervación es la separación en dos fases líquidas. La fase más concentrada es el coacervado, y la otra fase es la solución en equilibrio (International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014).

proceso de secado sea solo una extensión del mecanismo de gelación. El mecanismo formador de película durante el secado puede distinguirse del mecanismo de gelación, aunque la gelación húmeda puede ser la etapa inicial del proceso formador de película. Podría haber una etapa crítica de transición entre un gel húmedo y una película seca, la cual se relaciona con una etapa de transición entre un sistema polímero en agua (u otro solvente) y un sistema agua en polímero (Han, 2014).

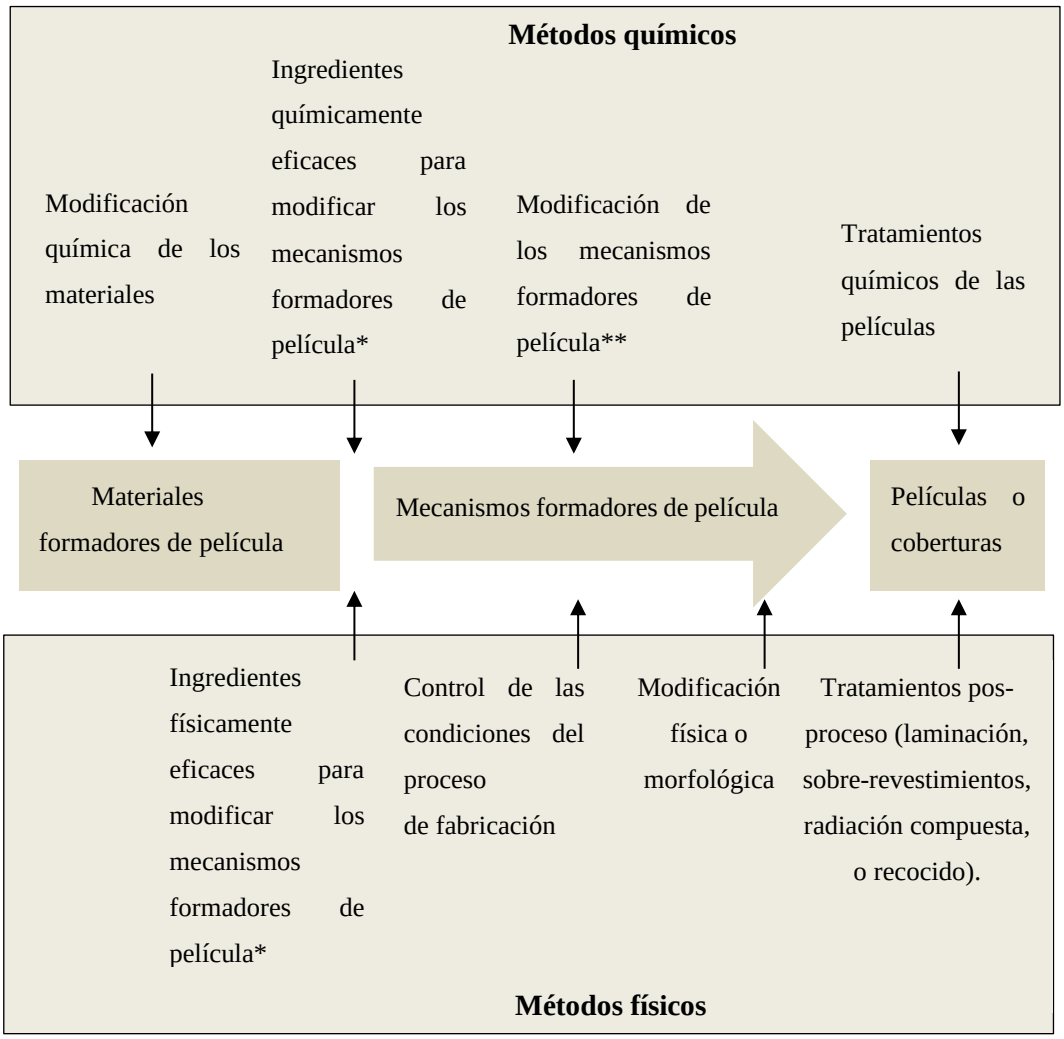

Figura 5. Varias maneras de modificar las características de películas y coberturas comestibles. * Indica la adición de ingredientes físicamente o químicamente activos que pueden mejorar o interferir con los mecanismos formadores de película; ** incluye cualquier reticulación química, sustitución química de cadenas laterales para crear interacciones hidrofóbicas o electrostáticas, y otros mecanismos extras causados por modificaciones químicas. Fuente: (Han, 2014).

Los mecanismos formadores de película de la mayoría de biopolímeros después de la gelación todavía no han sido claramente determinados. Para identificarlos se requieren varias técnicas de laboratorio de química de polímero, que incluye, difracción de rayos x, espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), espectrometría con resonancia magnética nuclear (NMR), electroforesis, microscopía de polarización, y otras metodologías de análisis de polímeros (Han, 2014).

Para predecir los mecanismos de formación de película moldeadas por extrusión (proceso seco) se deben investigar muchas propiedades termoplásticas y morfológicas tales como la gelatinización, fusión del polímero, perfil de flujo y reorganización del polímero, entre otros (Han, 2014).

La Figura 5 describe los métodos físicos y químicos para modificar las características de películas y coberturas comestibles, alterando los materiales formadores de película, variando las condiciones de proceso, y aplicando tratamiento sobre las películas formadas. Por ejemplo, los métodos químicos que modifican los mecanismos de formación de películas proteicas, incluyen los cambios de pH, la adición de sal, desnaturalización térmica, cambio de disolvente, modificación química de las cadenas de péptidos, reticulación e hidrólisis de péptidos irradiación de péptidos y la adición de proteínas foráneas (Han, 2014).

3.2.4. Propiedades

La Tabla 4 presenta una lista de las propiedades de interés en películas y coberturas proteicas, junto con las referencias pertinentes a los métodos de ensayo.

3.2.4.1. Propiedades mecánicas

Las propiedades más usualmente medidas para caracterizar mecánicamente películas son la resistencia a la tracción (TS) (fuerza de tracción por unidad de área de sección transversal, de una película, requerida para romper la película), elongación (E) (grado en que la película se puede estirar antes de romperse), y módulo elástico (EM) (rigidez de la película determinada por la relación entre la fuerza de tracción/área y el grado de estiramiento de la película). La dureza de la película se aproxima por el producto de TS y E (Krochta, 2002).

Tabla 4. Propiedades de películas y coberturas proteicas y métodos para su determinación.

Propiedad de la película o cobertura	Método de medición
Permeabilidad al vapor de agua	ASTM E 96 (ASTM, 1995d)
	ASTM F 1249 (ASTM, 1995e)
	(McHugh, et al., 1993)
	(Gennadios, et al., 1994)
Permeabilidad al oxígeno	ASTM D 3985 (ASTM, 1995c)
	(Gilbert, et al., 1969)
Permeabilidad a aromas	(Hernandez, et al., 1986)
	(Miller, et al., 1998a)
Permeabilidad a aceites	ASTM F 119 (ASTM, 1992)
	(De Mulder-Johnston, 1999)
Propiedades de tracción	ASTM 882 (ASTM, 1997)
Resistencia a la tracción	
Módulo elástico (de Young)	
Elongación	
Solubilidad de la película o cobertura	(Handa, et al., 1999)
Solubilidad de proteínas de la película o cobertura	(Roy, et al., 1999)
Brillo	ASTM D 523 (ASTM, 1995a)
Color	ASTM D 1925 (ASTM, 1995b)

Fuente: Adaptado de Krochta, (2002).

Otros ensayos mecánicos pueden incluir resistencia a la compresión, resistencia a la punción, resistencia al rasgado, resistencia a la abrasión, fuerza de adhesión, resistencia al plegado, y otros (Han, 2014).

Las películas de proteína parecen tener TS más bajas que la mayoría de las películas a base de polisacáridos y polímeros sintéticos, y más baja E que las películas sintéticas. El nivel de plastificante tiene un efecto dramático sobre las propiedades, de tal forma que cuando el contenido de plastificante aumenta, TS y EM decrece y E aumenta. Cuando el nivel de plastificante se disminuye para obtener valores TS de películas proteicas similares a aquellas de polietileno (PE) o polipropileno (PP), los valores de E son uno o dos órdenes de magnitud más bajos que aquellas de PE o PP (Krochta, 2002).

En general, bajo condiciones de altas humedades relativas, las propiedades físicas son más bajas que a bajas humedades relativas, porque el agua absorbida

funciona como plastificante. La temperatura también afecta las propiedades físicas y mecánicas de películas y coberturas comestibles. La resistencia física de los materiales disminuye dramáticamente cuando la temperatura aumenta por encima de la temperatura de transición vítrea. Alta humedad relativa y grandes cantidades de plastificantes disminuyen la temperatura de transición vítrea de los materiales formadores de películas (Han, 2014).

Por lo tanto, las películas proteicas tienen ni de lejos la resistencia de las películas convencionales de polímeros sintéticos. Sin embargo, las propiedades mecánicas de películas proteicas son, en general, suficientes para usar en muchos productos, tales como fundas, envolturas, bolsitas, y coberturas (Krochta, 2002).

3.2.4.2. Solubilidad

La solubilidad de las películas y coberturas es una importante propiedad que se relaciona con el uso deseado. En algunos casos, una película o cobertura fácilmente soluble en agua es deseable, como en el caso de una bolsa que contienen ingredientes alimenticios. En otros casos, se prefiere una película o cobertura insoluble para mejorar la resistencia al gua y mejorar la integridad del alimento. Los formadores de películas (filmogénicos) tales como la zeína de maíz y el gluten de trigo que no son solubles en agua producen películas y coberturas que no son solubles en agua. Las proteínas filmogénicas que son solubles en agua producen películas de variable solubilidad, dependiendo de la proteína y las condiciones de formación y tratamiento de las películas. Por ejemplo, el aislado proteico de lactosuero nativo produce películas totalmente solubles en agua; pero las soluciones termo-desnaturalizadas producen películas insolubles en agua (Pérez-Gago, et al., 1999).

Los efectos de la concentración de proteína y plastificante sobre la solubilidad fueron observados en películas de aislado proteico de suero (Gounga, et al., 2007); (Ozdemir, et al., 2008); (Ramos, et al., 2013), concentrado proteico de suero (Kim, et al., 2001), queratina de plumas (Rocha-Plácido, et al., 2006), aislado proteico de soya (Kim, et al., 2003); (Denavi, et al., 2009); (Ciannamea, et al., 2014), aislado proteico de alverja (Kowalczyk, et al., 2011), proteína miofibrilar de tilapia de Nilo (Monterrey-Quintero, et al., 2000), proteínas hidrosolubles de pescado (Bourtoom, et al., 2006), proteínas de pecho de pollo (Nemet, et al., 2010), proteína de triticale

(Aguirre, et al., 2013), aislado proteico de haba (Saremnezhad, et al., 2011), concentrado proteico de ricino (Makishi, et al., 2013). Denavi, et al., (2009) han reportado que la solubilidad de las películas de aislado proteico de soya preparadas por casting, fueron afectadas significativamente por las condiciones de secado (HR y temperatura).

Tabla 5. Solubilidad de películas comestibles y/o biodegradables.

Película	Metodología	pH	Solubilidad (g/100 g materia seca)
Películas de origen vegetal			
Casting 5% CPL- 0,5 (Gli/CPL)	(Gontard, et al., 1992)	11	38,75 ± 3,2 (Bamdad, et al., 2006)
Casting 10% CPR-GX – 0,25 (Gli/CPR)	(Gontard, et al., 1992)	~12	48,4 ± 1,8 (Makishi, et al., 2013)
Casting 7,5% CPT – 0,30 (Sor/CPT)	(Gontard, et al., 1992)	Natural	~52 (Aguirre, et al., 2013)
Casting 5% APS – 0,3 (Gli-APS)	(Rhim, et al.,1998)	10	52,8 ± 3,1 (Ciannamea, et al., 2014)
Películas de origen animal			
Casting 1,6% MC:CPLS (1:3) – 0,5 (Gli/MC:CPLS)	(Gontard, et al., 1992)	10	48,98 ± 14,41 (Muñoz, et al., 2012)
Casting 4,2% APLS – 0,43 (Gli/APLS)	(Gontard, et al., 1992)	Natural	~20 (Leuangsukrerk, et al., 2014)

Gli, Glicerol; APLS, Aislado proteico de lactosuero; APS, Aislado proteico de soya; CPL, Concentrado proteico de lenteja; CPR, Concentrado Proteico de Ricino; CPT, Concentrado proteico de Triticale; GX, Glioxal; GE, Gelatina; MC, Mucílago de Chía; CPLS, Concentrado proteico de lactosuero; Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 5 se muestra la solubilidad de películas comestibles y/o biodegradables elaboradas de diferentes materiales proteicos. Allí se ve claramente que la solubilidad depende de la proteína, las condiciones de formación y tratamiento de las películas

3.2.4.3. Propiedades de barrera

El principal interés en películas y coberturas comestibles está basado en el potencial de proveer una combinación de barreras a la humedad, oxígeno, aroma, color, o aceite para un alimento o medicina, con un incremento su calidad y vida útil. En consecuencia, es de interés determinar la permeabilidad de películas comestibles a estas sustancias. La permeabilidad es una propiedad de estado

estacionario que describe el grado en que una sustancia permeante se disuelve y luego la velocidad a la que se difunde a través de una película, con una fuerza impulsora relacionada con la diferencia de concentraciones del permeante entre ambos lados de las películas. La permeabilidad es por tanto definida como

$$Permeabilidad = \frac{\begin{pmatrix} Velocidad\ de\ permeación\ en\ estado \\ estacionario\ de\ una\ película\ por \\ unidad\ de\ tiempo \end{pmatrix}\begin{pmatrix} Espesor\ de \\ película \end{pmatrix}}{(Área\ de\ película)\begin{pmatrix} concentración\ del\ permeante \\ o\ diferencia\ de\ presión\ parcial \\ a\ través\ de\ la\ película \end{pmatrix}}$$

donde la concentración o diferencia de presión parcial es entre las fases adyacentes a los dos lados de la película (Krochta, 2002).

El carácter polar de las proteínas determina las propiedades de barrera de las películas proteicas. Estas tienen alta permeabilidad a sustancias polares, tales como el vapor de agua, y baja permeabilidad a sustancias no polares, tales como el oxígeno, aromas y aceites. Debido a que los plastificantes, incluyendo al agua, incrementan la permeabilidad de las películas, la permeabilidad de las películas proteicas tanto a sustancias polares como no polares se incrementa con el contenido de plastificante y HR. El reto al usar las propiedades de barrera de películas proteicas es seleccionar la proteína, el plastificante y las condiciones de formación de película que optimicen las propiedades de barrera, a la vez que se logren otras propiedades deseables tales como la flexibilidad, resistencia, y solubilidad. La falta de conocimiento y datos sobre películas comestibles, en general, sigue impidiendo el diseño de películas comestibles que cumplan los deseos de especificación (Krochta, 2002).

Es importante notar que el contenido de plastificante (tipo y cantidad) y las condiciones de ensayo (temperatura y HR) tienen efectos importantes sobre las propiedades de las películas. Incrementando la cantidad de plastificante, temperatura y HR, generalmente, se incrementa la permeabilidad. Por lo tanto, las propiedades de las películas deben ser compararse en condiciones de ensayo tan idénticas como sean posibles (Krochta, 2002).

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

Las películas proteicas tienen valores de PVA bastante altos comparados con ceras comestibles, las cuales son a menudo usadas como coberturas de barrera a la humedad sobre frutas, vegetales, confites, y medicinas, y con películas de polietileno de baja densidad (PEBD), que se usan para proteger alimentos y medicinas de la humedad. La PVA de películas proteicas son dos a cuatro veces más grande que las películas de PEBD (Krochta, 2002).

Tabla 6. Permeabilidad al Vapor de Agua de películas comestibles.

Película	Condiciones de Ensayo (T, HR)		Grosor (µm)	WVP (10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1})
Películas de origen vegetal				
Casting CPL- 0,5 (Gli/CPL)	25°C	0-100%	150	3,095 ± 0,02 (Bamdad, et al., 2006)
Casting GT- 0,3 (Gli/GT)	25°C	0-100%	50	1,36 (Gontard, et al., 1993)
Casting ZM – 0,26 (Gli/ZM)	21°C	0-85%	120-330	1,16 ± 0,19 (Park, et al., 1995)
Casting CPS – 0,30 (Gli/CPS)	25°C	0-65%	143 ± 22	3,09 ± 0,30 (Ciannamea, et al., 2014)
Casting APS – 0,25 (Gli/APS)	20°C	0-80%	75,9 ± 2,9	3.36 ± 0,19 (Jian, et al., 2012)
Casting APM – 0,67 (Gli/APM)	37,8 °C	0-50%	111,0 ± 21,3	1,05 ± 0,15 (Jangchud, et al., 1999)
Películas de origen animal				
Casting GE – 0,20 (Sor/GE)	25°C	50-100%	72 ± 3.3	5,0 ± 0,2 (Park, et al., 2008)
Casting APLS – 0,30 (Gli/APLS)	25°C	30-100%	87,4 ± 3,9	[3-4] (Kokoszka, et al., 2010)
Películas sintéticas				
HDPE	38°C	0-90%	-	0,003 (Delassus, 1997)
LDPE	38°C	0-90%	-	0,011 (Delassus, 1997)
Nylon-6	38°C	0-90%	-	0,081 (Delassus, 1997)
PET	38°C	0-90%	-	0,014 (Delassus, 1997)
PP	38°C	0-90%	-	0,005 (Delassus, 1997)

Gli, Glicerol; Sor, Sorbitol; CPL, Concentrado proteico de lenteja; GT, Gluten de Trigo; ZM, Zeína de Maíz; CPS, Concentrado Proteico de Soya; APS, Aislado proteico de soya; APM, Aislado proteico de maní; GE, Gelatina; APLS, Aislado proteico de Lactosuero; HDPE, Polietileno de alta densidad; LDPE, polietileno de baja densidad; PET, Polietileno Tereftalato; PP, Polipropileno. Fuente: Elaboración propia.

Las proteínas solubles en soluciones hidroalcohólicas, zeína de maíz y gluten de trigo, y también proteínas miofibrilares de pescado forman películas que tienen los más bajos valores de PVA entre las proteínas y son comparables a la PVA de derivados de la celulosa. Varios estudios muestran el efecto de altas

concentraciones de plastificante y altos valores HR sobre el incremento de la PVA (Krochta, 2002).

El incremento de la PVA causado por la influencia de un agente plastificante ha sido reportado ampliamente en películas de: albúmina de huevo (Gennadios, et al., 1996), proteína miofibrilar, (Cuq, et al., 1997), gelatina de piel de cerdo y res (Sobral, et al., 2001); (Vanin, et al., 2005), aislado proteico de lactosuero (Fang, et al., 2002); (Gounga, et al., 2007); (Kokoszka, et al., 2010), gelatina de piel de pescados: *L. vitta* y *P. macracanthus* (Jongjareonrak, et al., 2006), gelatina tipo B de hueso bovino (Cao, et al., 2009), aislado proteico de canola (Chang, et al., 2015).

El incremento de la PVA debido al incremento de la concentración de proteína fue reportado por (Anker M. , 2000), (Jongjareonrak, et al., 2006), (Gounga, et al., 2007), (Kokoszka, et al., 2010) (Kokoszka, et al., 2010), (Chang, et al., 2015).

En la Tabla 6 se presenta los valores de permeabilidad al vapor de agua de varias películas proteicas biodegradables y sintéticas. Allí se constata que la PVA de estas últimas son muy inferiores respecto las primeras.

Permeabilidad al oxígeno (PO)

A bajas e intermedios valores de HR, las películas proteicas tienen valores de PO que son más bajos que las de polietilenos (los cuales no son buenas barreras al oxígeno), comparables a aquellos de modesta barrera al oxígeno como son los poliésteres, y aproximándose a aquellas películas que son las mejores barreras al oxígeno, el copolímero del etilen-vinil-alcohol (EVOH) y el cloruro de polivinilideno (PVDC). Las películas proteicas también parecen tener valores de PO más bajos que aquellas hechas de celulosa. Algunos estudios muestran el efecto de altos valores HR sobre el incremento de la OP de películas proteicas, la cual es similar al efecto de la HR sobre las excelentes barreras al oxígeno de películas de EVOH. Los bajos valores de OP de películas proteicas parecen hacerlas útiles para coberturas y bolsas para productos sensibles al oxígeno (Krochta, 2002).

Permeabilidad a aromas y aceites

Se han hecho pocas investigaciones sobre la cuantificación de la permeabilidad a aromas de películas proteicas. Sin embargo, los resultados mostraron que películas de gluten de trigo fueron mejores barreras al 1-octen-3-ol (aroma a cetas)

que películas de PEBD o películas de metilcelulosa (MC) (Debeaufort & Voilley, 1994). Otro resultado de investigación mostró que las películas de lactosuero fueron mejores barrera al limoneno (aroma cítrico) que películas de copolímero de cloruro de vinilideno (co-VDC) y comparables a las del copolímero de etilen-vinil-alcohol (EVOH), a similares condiciones (Miller, et al., 1998).

De manera similar, existen pocos datos sobre permeabilidad a aceites de proteínas proteicas. La zeína de maíz mostró tener una excelente resistencia a la grasa, tanto en película como cobertura sobre papel (Trezza, et al., 1994). Estos resultados mostraron el potencial de envolturas de papel totalmente compostables y cajas para la industria alimentaria. Resultados de investigación también mostraron que películas de lactosuero (De Mulder-Johnston, 1999) y coberturas de proteína de lactosuero sobre papel (Chan, 2000) proveyeron excelentes barreras al aceite.

3.2.4.4. Otras propiedades

Varias otras características de las películas son a menudo estudiadas, especialmente para la comprensión de las propiedades mecánicas y de barrera de las películas. Estas son el grosor, isotermas de sorción, difusividad de solutos dentro de las películas, color y opacidad, etc. (Debeaufort, et al., 1994).

Tabla 7. Diferencia de color de películas comestibles.

Película	Grosor (µm)	∆E*
Películas de origen vegetal		
Casting CPS- 0,3 (Gli/CPS)	143 ± 22	21,3 ± 2,9 (Ciannamea, et al., 2014)
Casting HSD- 0,3 (Gli/HSD)	100±30	27,8 ± 1,6 (Lee, et al., 2013)
Casting CPR-GX – 0,25 (Gli/CPR)	116-126	42-48 (Makishi, et al., 2013)
Películas de origen animal		
Casting GE – 0,30 (Gli/GE)	77 ± 4	2,93 ± 0,03 (Vanin, et al., 2005)
Casting MC:CPLS (1:3) – 0,5 (Gli/CPLS)	90-110	14,78 ± 0,84 (Muñoz, et al., 2012)

Gli, Glicerol; CPS, Concentrado proteico de soya; HSD, Harina de soya desgrasada; CPR, Concentrado Proteico de Ricino; GT, Glioxal; GE, Gelatina; MC, Mucílago de Chía; CPLS, Concentrado proteico de lactosuero; Fuente: Elaboración propia.

Los parámetros de color han sido estudiados en películas de clara de huevo (Gennadios, et al., 1996), 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), gelatina (Vanin, et al., 2005), gelatina de piel de cerdo (Park, et al., 2008), gelatina de piel de halibut (*Hippoglossus hipoglossus*) (Carvalho, et al., 2008), aislado proteico de soya y gelatina de bacalao (*Godus morhua*) (Denavi, et al., 2009), aislado y concentrado proteico de lactosuero (Ramos, et al., 2013), concentrado proteico de ricino (*Ricinus communis* L.) (Makishi, et al., 2013), (Lee, et al., 2013), y harina desgrasada de soya (*Glycine max*) (Ciannamea, et al., 2014).

En la Tabla 7 se presentan las diferencias de color de diversas películas obtenidas en diferentes trabajos de investigación. Allí se aprecia que la diferencia de color depende en primera instancia del material de origen.

3.2.5. Viabilidad del sistema comercial

La producción de películas y coberturas comestibles pueden requerir nuevos sistemas de producción que pueden incluir extrusión, rodillos de orientación, secador-transportador, baño de cobertura, revestimiento en bandeja, u otros procesos. Estos nuevos sistemas de producción deberían ser económicamente viables y compatibles con los actuales procesos de producción de películas de empaque y coberturas de alimentos. Serán viables cuando simples modificaciones en la película de empaque y el proceso de cobertura conduzcan a la producción de películas y coberturas comestibles sin inversiones significativas. Para satisfacer esta viabilidad de los nuevos sistemas de producción, la composición de los materiales formadores de películas deberían ser cuidadosamente optimizados y en consecuencia los mecanismos de formación de películas (Petersen, et al., 1999).

3.2.6. Tendencias de Investigación

A partir de los últimos estudios avanzados, se pueden identificar algunas tendencias (Han, 2014):

1. Varios nuevos materiales poliméricos comestibles fueron utilizados para crear películas y coberturas a partir de materiales tradicionales tales como proteína de soya, proteína de lactosuero, almidones o ceras. Hubo también mucha

investigación llevada a cabo en combinaciones o mezclas de múltiples materiales poliméricos.

2. La mayoría de los artículos de investigación identificaron los beneficios, asociados con el uso de películas y coberturas comestibles, señalados por varios experimentos con alimentos reales. Estos estudios demostraron efectos positivos de las películas y coberturas sobre la vida útil de productos frescos y perecederos y sobre la calidad alimentos procesados. La mayoría de las investigaciones anteriores se habían ocupado principalmente solo de la caracterización de las propiedades físicas y mecánicas de películas comestibles.
3. La investigación en películas y coberturas comestibles se han realizado con el objetivo de mejorar las propiedades de barrera, y muchos proyectos de investigación han utilizado películas y coberturas comestibles como portadores de agentes bio-activos y nanopartículas (Falguera, et al., 2011) (Rojas-Graü, et al., 2009).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de: Investigación, Análisis de Composición de Productos Agroindustriales, Tecnología de Productos Agroindustriales no Alimentarios Ingeniería y Diseño de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la UNSM-T, Ciudad Universitaria, Morales, Provincia y Región San Martín.

4.2. Materiales

4.2.1. Materia prima

La materia prima peletizada procedió de la extracción de aceite extra virgen de los granos de Sacha Inchi de la Empresa Shanantina S.A.C. ubicada en la provincia de Lamas, departamento de San Martín.

4.2.2. Instrumentos y equipos

- Equipo centrífuga (Marca BOECO Modelo C-28A).
- Molino de discos (Marca Qingdao Dahua Modelo FFC-23).
- Cocina eléctrica con agitador magnético (Marca NUOVA Modelo SP 18420 -26).
- Agitador magnético (Marca CAT Modelo M5).
- Agitador de paleta (Marca CAT Modelo R14).
- Estufa y Secador convectivo (Marca POL-EKO Modelo SLW115STD).
- Termómetro digital rango de -50 -300°C (Marca BOECO).
- Balanza Analítica de precisión (Marca AND Modelo GH-200).
- Micrómetro digital (Marca Mitutoyo Modelo MDC-25L).
- pHmetro (Marca Metrohm Modelo 827 pH lab).
- Baño María con Agitador (Marca MEMMERT).
- Vapómetros (Marca Thwing-Albert).
- Colorímetro tri-estímulo (Marca Konica Minolta Modelo CR-400).
- Refrigeradora (Marca SAMSUNG Modelo RS21HKLMR1/SAM).
- Medidor de Actividad de Agua (Marca ROTRONIC Modelo HP23-AWA).
- Balanza Analítica gramera (Marca VIBRA SJP Modelo SJP-4200E).

- Estufa de Convección Natural (Marca FRAVILL Modelo ED 080).
- Liofilizador (Marca LABCONCO Modelo FreeZone 6 Plus).
- Espectrofotómetro UV-VIS (Marca THERMO SPECTRONIC Modelo GENESIS 6).

4.2.3. Materiales de laboratorio

- Set de Tamizadores ASTM.
- Vasos de Precipitado.
- Placas de Petri de 145 mm de diámetro.
- Matraces.
- Pipetas de 100-1000 µL (Marca BOECO Modelo SP)
- Pipeta Transferpette de 0,5 – 5 ml (Marca BRAND)
- Fiolas
- Probetas.
- Campanas de vidrio.

4.2.4. Reactivos

- Ácido Clorhídrico (CAS 7467-01-0)
- Hidróxido de Sodio (Marca MERCK MILLIPORE CAS 1310-73-2)
- Sorbitol (Marca MERCK MILLIPORE CAS 50-70-4)
- Agua destilada
- Sílica Gel Indicador Azul 6-16 mesh (Marca SPECTRUM CAS 1393-98-2)
- Nitrato de Magnesio Hexahidrato (Marca MERCK MILLIPORE CAS 13446-18-9)
- Cloruro de Potasio (Marca MERCK MILLIPORE CAS 7447-40-7)

4.3. Metodología

4.3.1. Acondicionamiento de la materia prima

La torta se molió en un molino de discos para reducir el tamaño de partícula y facilitar la extracción de proteína. A continuación se tamizó la torta molida en un sistema de tamices ASTM para homogenizar el tamaño de partícula de la muestra.

4.3.2. Caracterización químico proximal de la torta de sacha inchi (TSI) y del aislado proteico de sacha inchi (APSI)

La caracterización químico proximal de la torta de Sacha Inchi y del aislado proteico de Sacha Inchi se determinó de acuerdo a los métodos oficiales descritos por la AOAC (1995), comprendiendo los siguientes análisis:

4.3.2.1. Determinación de humedad

La determinación de la humedad se llevó a cabo por el método gravimétrico basado en la norma oficial 935.29 de la AOAC (AOAC International, AOAC Official Method 935.29 - Moisture in Malt, 1998), esto es, a 105° por 24°C.

4.3.2.2. Determinación de proteínas

Se determinó por el método Kjeldahl, Método Oficial AOAC 991.20 (AOAC International, 1998) y el contenido de proteína se calculó multiplicando el porcentaje de nitrógeno por el factor de conversión 6,25.

4.3.2.3. Determinación de extracto etéreo (grasa cruda)

El extracto etéreo se determinó por el sistema Soxhlet de acuerdo al método oficial AOAC 920.39 (AOAC International, 1998).

4.3.2.4. Determinación de fibra cruda

La determinación de fibra cruda se efectuó de acuerdo al método oficial AOAC 962.09 (AOAC International, 1998).

4.3.2.5. Determinación de cenizas totales

El contenido de cenizas totales se determinó usando el método oficial AOAC 923.03 (AOAC International, 1998).

4.3.2.6. Determinación de carbohidratos

El contenido de carbohidratos se obtuvo por diferencia, restando de 100, el porcentaje del resto de componentes (Instituto Nacional de Salud, 2009).

4.3.3. Efecto del pH en la extracción de proteína

Se suspendió la torta de Sacha Inchi en agua destilada en razón de 1:10 (m/v). Luego 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. El residuo insoluble fue removido por centrifugación a 6 000 rpm por 5 minutos. El sobrenadante fue colectado y su contenido de proteína fue determinada por el método de Biuret usando albúmina de suero bovino (HiMedia) como estándar (Gornall, et al., 1949).

El rendimiento de extracción de proteína fue calculado como:

$$\text{Rendimiento de Extracción de Proteína } (\%) = \frac{\text{proteína extraída}}{\text{proteína en la torta de Sacha Inchi}}$$

4.3.4. Obtención del aislado proteico de sacha inchi

El aislado proteico de Sacha Inchi fue preparado utilizando el pH que produjo el mayor rendimiento de extracción de proteína. Para la obtención del aislado proteico de Sacha Inchi se mezcló, con la ayuda de un agitador de paletas, la torta molida y el 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 trasvasó a tubos para centrifugarse a 6000 rpm por 5 min. El sobrenadante obtenido se trasvasó a un vaso de precipitado y bajo agitación, con un agitador de paletas, se llevó hasta el punto isoeléctrico de las proteínas pH 4,5 con una solución de HCl a 2 N. Llegado al punto isoeléctrico se detuvo la agitación y la mezcla se dejó en reposo durante 15 minutos para permitir la agregación de las proteínas. Luego se trasvasó la mezcla a tubos para centrifugarla a 6000 rpm por 5 minutos. El pellet formado en el fondo de los tubos, tras la operación de centrifugación, considerado como aislado proteico de Sacha Inchi (APSI), se recuperó con la ayuda de pequeñas espátulas de acero inoxidable y se colocó dentro de un vaso de precipitado. En seguida se agregó agua destilada y bajo agitación constante se ajustó el pH de la suspensión hasta 9. Se detuvo la agitación y el contenido del vaso de precipitado se trasvasó a moldes de cubo de 2 X 7 (10 ml en cada cubo), con la ayuda de una pipeta transferpette de 5 ml. Luego estos moldes fueron colocados dentro de una congeladora durante 6 horas hasta lograr que la temperatura de la suspensión llegue a -25°C.

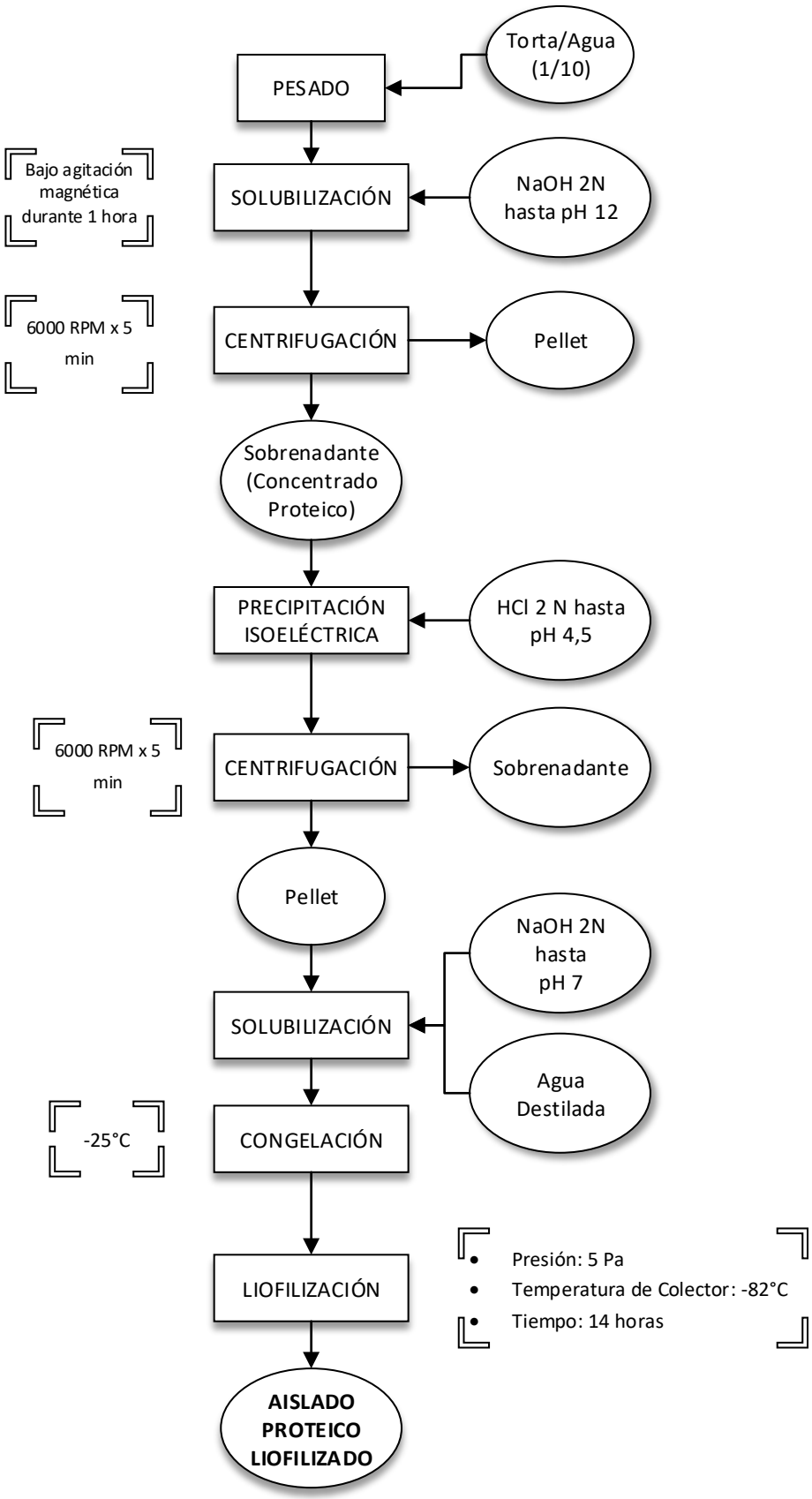

Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de aislado proteico de Sacha Inchi a partir de la torta. Fuente: Elaboración propia.

Alcanzada esta temperatura, los moldes se retiraron de la congeladora y la suspensión congelada se desmoldó, obteniéndose pequeños bloques de suspensión congelada. Rápidamente éstos se colocaron dentro de vasos de liofilización de tal manera que se encuentren formando un lecho dentro de cada vaso.

A continuación, los vasos se colocaron en la congeladora por 30 minutos para permitir que la suspensión alcance nuevamente los -25°C. Transcurrido este tiempo, los vasos se acoplaron al equipo liofilizador donde se llevó acabo la deshidratación del aislado proteico de Sacha Inchi bajo condiciones de presión y temperatura de 5 Pa y -82°C, respectivamente, durante 14 horas. En la Figura 6 se presenta el flujograma para la obtención del aislado proteico de Sacha Inchi a partir de la torta obtenida del proceso de extracción de aceite.

4.3.5. Preparación de la dispersión filmogénica y películas comestibles y/o biodegradables

En la Figura 7 se presenta el flujograma para la obtención de las películas biodegradables comestibles.

Para la preparación de la solución filmogénica se utilizó el aislado proteico de Sacha Inchi y sorbitol como plastificante, en las concentraciones indicadas en la Tabla 9, adicionándose la cantidad de agua requerida para completar el 100 % de la solución filmogénica. La mezcla se hizo en un vaso de precipitado y con la ayuda de un agitador magnético, bajo agitación constante, se ajustó el pH de la suspensión a 11 con una solución de NaOH a 2 N. Luego se llevó a 70°C aproximadamente en un equipo de Baño María. Alcanzada esta temperatura, el vaso que contiene la solución filmogénica se llevó a una cocina eléctrica con agitación magnética para llevar a cabo el tratamiento térmico de la solución filmogénica hasta 85°C durante 60 minutos bajo agitación constante, procediendo luego a vaciar 15 ml de la solución filmogénica (casting) en placas de Petri de vidrio de aproximadamente 165 cm^2 de superficie, donde se formaron las películas.

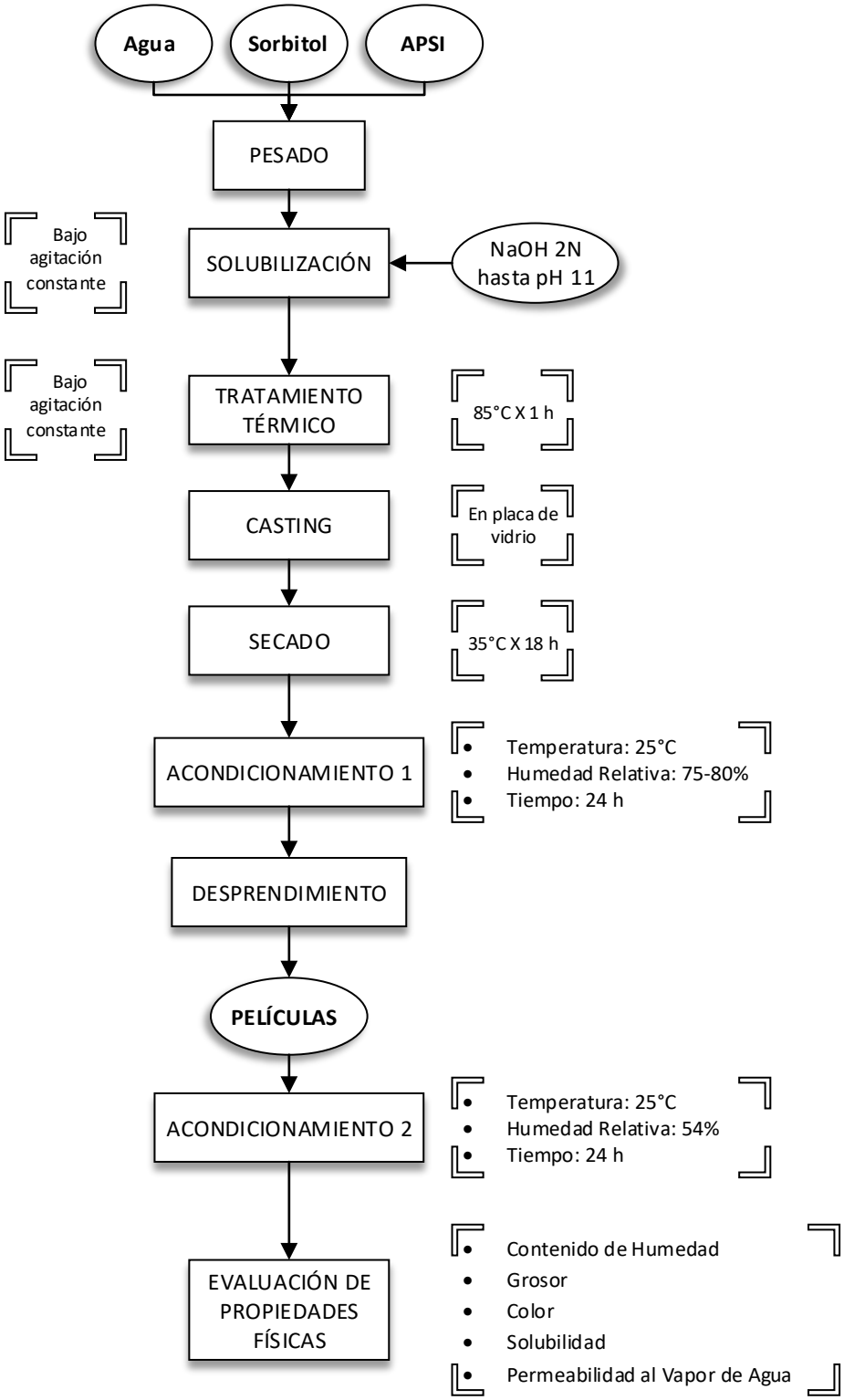

Figura 7. Diagrama de flujo para la obtención de películas biodegradables comestibles de aislado proteico de Sacha Inchi. Elaboración propia.

Las placas se colocaron en un secador convectivo a temperatura de 35 °C por un tiempo de 18 horas, pasando luego a campanas de vidrio por 24 horas que contienen una solución sobresaturada de cloruro de potasio (KCl), que mantiene

una humedad controlada de 84-85% de HR de 20-25°C, para permitir que la películas se hidraten y se desprendan de la placa. Tras lo cual, las películas son llevadas a campanas de vidrio que contienen una solución sobresaturada de nitrato de magnesio hexahidratado ($Mg(NO_3)_2.6H_2O$), que mantiene el ambiente a una humedad relativa de 52-55% a 20-25°C, antes de ser sometidas a evaluación de sus propiedades físicas.

4.3.6. Diseño estadístico experimental

El diseño estadístico experimental que se utilizó fue factorial 2^k de tipo central compuesto, 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 –α (-1,4142) y +α (+1,4142) (Figura 8).

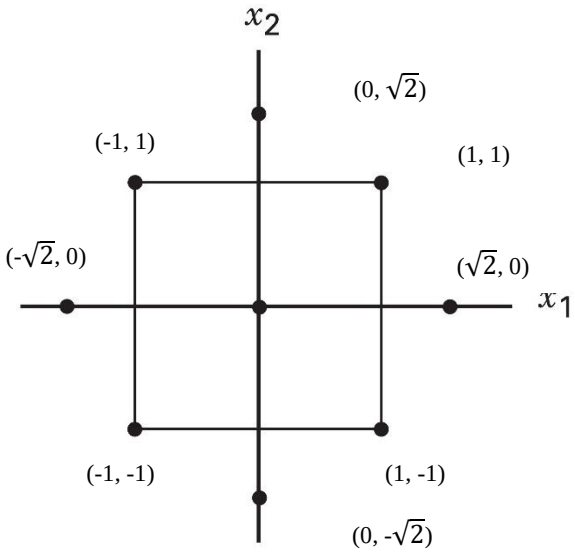

Figura 8. Diseño Central Compuesto del Experimento.

En la Tabla 8 se presentan los tratamiento del estudio ($2^2 + 5 + 2 \times 2$) y en la Tabla 9 el plan de experimentación que se obtiene al reemplazar los valores de las variables codificadas por los valores de las variables reales.

Los efectos de los diferentes factores serán analizados mediante análisis de varianza y gráficas de superficie de respuesta, usando Minitab® 17, Statgraphics Centurion® XV, Design Expert® 10 y Statistica® 10.

Tabla 8. Tratamientos del estudio.

Factores	Dominio Experimental				
	-α	-1	0	1	α
X_1: Aislado proteico de Sacha Inchi (%)	5,38	6,0	7,5	9	9,62
X_2: Concentración de sorbitol (%)	1,55	1,85	2.575	3,30	3,60

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9. Matriz de experimentos del diseño factorial 2^k

Variables naturales			Variables codificadas		Respuesta
N°	Aislado proteico (%)	Sorbitol (%)	X_1	X_2	
1	6	1,85	-1	-1	(Y1)
2	6	3,3	-1	1	(Y2)
3	9	1,85	1	-1	(Y3)
4	9	3,3	1	1	(Y4)
5	7,5	2,575	0	0	(Y5)
6	7,5	2,575	0	0	(Y6)
7	7,5	2,575	0	0	(Y7)
8	7,5	2,575	0	0	(Y8)
9	7,5	2,575	0	0	(Y9)
10	9,62	2,575	α	0	(Y10)
11	5,38	2,575	-α	0	(Y11)
12	7,5	3,60	0	α	(Y12)
13	7,5	1,55	0	-α	(Y13)

Fuente: Elaboración propia.

4.3.7. Evaluación de las propiedades físicas de películas de aislado proteico de Sacha Inchi

4.3.7.1. Solubilidad (%)

Muestras de 2 cm de diámetro fueron pesadas y colocadas en beakers de 200 ml conteniendo 100 ml de agua destilada. Los beakers fueron cubiertos, y colocados en un baño de agua a 25°C con agitación en vaivén a 120 gpm durante 3 h. Las películas no solubilizadas en agua fueron removidas de los beakers y secadas (105°C por 24 h) para determinar el peso de materia seca solubilizada. Los valores de materia seca inicial necesarios para calcular la solubilidad fueron obtenidos del cálculo del contenido de humedad de la misma película. Las pruebas se realizaron por triplicado (Rhim, et al., 1998); (Handa, et al., 1999); (Aydemir, et al., 2014).

4.3.7.2. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua fue llevada a cabo usando el método ASTM E 96-95 (ASTM, 1995d) con algunas modificaciones (Salgado, et al., 2010). Cada muestra de película fue sellada sobre una abertura circular de 0,003167 m^2 en un vapómetro (Thwing Albert-Instrument, USA) que fue colocado a 24 °C dentro de un desecador. Para mantener una gradiente de humedad relativa de 100% a través de la película, se colocó agua destilada (100% HR_v) dentro del vapómetro y sílica anhidra (0% HR_d) en el desecador. La HR dentro del vapómetro fue alto 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 (después de aproximadamente 2 h), ocho mediciones del peso fueron hechos 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-15.1.02) y la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) fue calculada a partir de la pendiente (g H_2O/s). La PVA (g H_2O/Pa.s.m) fue calculado como:

$$PVA = \frac{VTVA}{P_v^{H_2O}.(HR_v - HR_d).A}.d$$

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

4.3.7.3. Color

El color de las películas se determinó usando un colorímetro triestímulo (Chromameter tipo CR-400, Minolta Sensing Osaka, Japón), con iluminante D_{65} y ángulo de visión de 10°, usando los parámetros de color CIELab: L*, desde negro (0) hasta blanco (100); a*, desde verde (-) hasta rojo (+); y b*, desde azul (-) hasta amarillo (+) (Gennadios, et al., 1996); (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 (ΔE*)

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

donde ΔL*, Δa* y Δb* son los diferenciales entre los parámetros de color de las muestras y los parámetros de color del blanco estándar (Tabla 10).

El color del APSI liofilizado también se determinó utilizando el mismo colorímetro (Tabla 10), pero en este caso, el polvo fue puesto en un accesorio para material granulado.

Tabla 10. Parámetros de color del plato de blanco estándar y del APSI liofilizado

	L*	a*	b*	ΔE*
Blanco estándar	97,63	0,04	1,82	-
APSI liofilizado	82,43	0,44	15,16	20,23

Fuente: Elaboración propia.

4.3.7.4. 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 (± 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.

4.3.7.5. Grosor (µm)

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

4.3.8. 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 minimicen tanto la permeabilidad al vapor de agua como la solubilidad, utilizando la técnica de la superposición de las gráficas de contorno de cada respuesta (Montgomery, 2013). La superposición de las gráficas de contorno se llevó a cabo usando Statistica 10®. La determinación de las condiciones de operación apropiadas se realizará por inspección visual de la gráfica superpuesta que genere los valores más bajos de solubilidad y PVA.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Acondicionamiento de la materia prima

Como resultado de las operaciones de molienda y tamizado de la torta de sacha inchi se obtuvo una harina cuya distribución granulométrica evidenció la presencia abundante de material retenido entre los tamices de abertura de malla de 425 a 180 µm. Se eligió la torta de sacha inchi comprendida en dicho intervalo para llevar a cabo su caracterización química proximal y la extracción de proteína

5.2. Caracterización química proximal de la torta de Sacha Inchi

La composición química de la torta de Sacha Inchi se presenta en la Tabla 11. 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 Betancourth-López, (2013), Sathe, Kshirsagar, & Sharma, (2012), y Pascual, et al., (2000) (Betancourth-López, 2013); (Sathe, et al., 2012); (Pascual, et al., 2000).

Por otro lado, el contenido lipídico de la torta, es similar al reportado por Pascual, et al., (2000) y Betancourth-López, (2013).

Tabla 11. Composición química de la torta de Sacha Inchi en base seca*.

Componente	%			
	Este trabajo	Sathe, et al., (2012)	Betancourth-López (2013)	Pascual, et al., (2000)
Proteína	59,59±0,84	59,1 ± 3,3	58,71	59,13
Grasa	6,18±0,47	-	6,88	6,93
Ceniza	5,49±0,01	-	8,65	8,72
Fibra cruda	17,5±0,37	-	17,18	17,30
Carbohidratos	11,25±2,39	-	7,86	7,91

***** Contenido de Humedad: 9,51 ± 0,19 %**.** Fuente: Elaboración propia.

5.3. Efecto del pH sobre el rendimiento de extracción de proteína

Cabe mencionar que durante el ajuste del pH desde 11 hasta 12 para solubilizar la proteína, la dispersión generó un olor azufrado y un incremento importante de la viscosidad, la cual disminuyo paulatinamente durante la agitación. Durante el ajuste del pH del concentrado proteico para aislar la proteína, se advirtió que al llegar a alrededor de pH 9,5 la dispersión proteica alcanzó una mínima solubilidad, tendiendo a formar un precipitado; lo cual podría tratarse de la albúmina reportada por Sathe, et al., (2002). Tras seguir disminuyendo el pH la dispersión proteica volvió a solubilizarse. Al alcanzar el pH 4,5 se observó la formación de partículas

blanquecinas que se agregaban rápidamente formando un precipitado en el fondo del vaso de precipitado.

En la Tabla 12 y la Figura 9 se muestran el rendimiento de extracción de proteína a partir de la torta de Sacha Inchi (TSI) en función al pH de solubilización. Se encontró que el rendimiento fue más bajo a pH 9. Pero aumenta marcadamente conforme el pH aumenta de 11 a 12. Este resultado sugiere que la proteína de la torta de Sacha Inchi se solubiliza mejor bajo condiciones alcalinas. La extracción a pH 12 demostró el máximo valor de 72,2 ± 1,43 % de rendimiento con un 28,39 ± 1,88% de aislado proteico de Sacha Inchi (APSI) liofilizado. En consecuencia, el valor de pH de 12 fue elegido para extraer la proteína que se utilizó en la elaboración de las películas.

Tabla 12. Rendimiento de extracción de proteína (%) en función del pH.

Rendimiento de Extracción (%)			
pH 9	pH 10	pH 11	pH 12
32,63	37,24	57,48	73,84
28,96	41,57	61,88	71,58
30,78	36,49	61,94	71,19
Promedio			
30,79[a]	38,44[b]	60,43[c]	72,20[d]
Desviación Estándar			
1,84	2,74	2,55	1,43

En las filas, los valores con superíndices distintos son significativamente diferentes con p≤0,05.

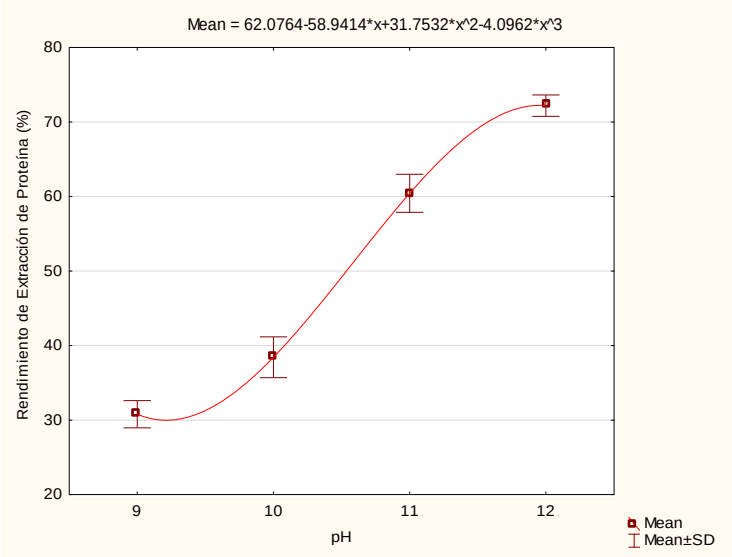

Figura 9. Curva de rendimiento de extracción de proteína. Fuente: Elaboración propia.

5.4. Caracterización química proximal del aislado proteico de sacha inchi

La composición proximal del APSI se presenta en la Tabla 13. El contenido de proteína del aislado fue de 89,1±0,88 % el cual es más alto que en la torta (59,59±0,84 %). El contenido de proteína en el aislado presentado en este trabajo es superior al obtenido a partir de soya y girasol (31,7% proteína en torta) por Salgado, et al., (2010) y Salgado, (2009), respectivamente y comparable al obtenido a partir de piñón (torta, 23,5 %) por Saetae, et al., (2010) (Ver Tabla 14).

Tabla 13. Composición química del Aislado Proteico de Sacha Inchi en base seca*

Componente	%
Proteína	89,1±0,88
Grasa	6,54±0,08
Ceniza	3,29±0,07
Fibra cruda y Carbohidratos Disponibles	1,07±1,46

* Contenido de Humedad: 3,69 ± 0,31%. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14. Contenido proteico (% base seca) del APSI y otros aislados proteicos.

Componente	Aislado Proteico			
	Sacha Inchi (%)	Soya (%)[a]	Girasol (%)[b]	Piñón (%)[c]
Proteína	**89,1±0,88**[1]	85,02±1,20[2]	75,42±0,37[3]	90,1±0,8[1]

[a] (Salgado, et al., 2010), Aislado Proteico Comercial , Supro 500E, Solae Company, Brazil. [b] (Salgado, 2009), obtenido del pellet desgrasado de girasol [c] (Saetae, et al., 2010), obtenido del pellet de piñón. En las filas, los valores con superíndices distintos son significativamente diferentes con p≤0,05.

5.5. Diseño estadístico experimental

Los resultados del diseño central compuesto 2^2 se resumen en la Tabla 15. El análisis estadístico de estos datos fueron llevados a cabo con un nivel de confianza del 95% (P<0,05) y del 90% (P<0,1), y los coeficientes de regresión se muestran en la Tabla 16.

Tabla 15. Matriz de experimentos del diseño central compuesto con los valores de los factores y respuestas del color, grosor, humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua.

Tratamiento	Factores		Respuestas					
			Color				Solubilidad (%)	PVA (10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1})
	% APSI	% Sor	ΔE*	L*	a*	b*		
	X_1	X_2	Y_{11}	Y_{12}	Y_{13}	Y_{14}	Y_2	Y_3
1	6 (-1)	1,85 (-1)	13,47±0,91	89,74±0,47	0,35±0,04	12,74±0,78	38,16±0,84	2,24±0,10
2	6 (-1)	3,3 (1)	10,32±0,11	91,56±0,13	0,14±0,03	10.17±0,08	47,78±1,19	2,95±0,01
3	9 (1)	1,85 (-1)	16,48±0,48	88,25±0,23	0,20±0,05	15,37±0,43	27,66±0,8	3,00±0,08
4	9 (-1)	3,3 (1)	12,61±0,14	90,37±0,18	0,26±0,04	12,13±0,05	40,36±0,47	3,38±0,01
5	7,5 (0)	2,575 (0)	11,79±0,07	91,49±0,03	-0,03±0,03	11,89±0,10	43,51±2,33	3,07±0,23
6	7,5 (0)	2,575 (0)	13,32±1,27	89,99±1,28	0,03±0,12	12,73±0,71	46,52±1,27	2,80±0,16
7	7,5 (0)	2,575 (0)	14,42±1,11	88,87±0,65	0,05±0,06	13,29±0,90	45,99±0,82	2,45±0,03
8	7,5 (0)	2,575 (0)	14,36±1,08	89,19±0,57	0,16±0,06	13,44±0,93	40,26±0,50	3,08±0,01
9	7,5 (0)	2,575 (0)	14,09±1,20	89,35±0,70	0,12±0,04	13,23±0,98	41,06±0,85	2,94±0,01
10	9,62 (α)	2,575 (0)	16,93±0,70	87,61±0,43	0,14±0,03	15,46±0,56	33,46±0,18	-
11	5,38 (-α)	2,575 (0)	13,44±0,65	89,16±0,46	0,07±0,06	12,27±0,47	43,86±0,25	-
12	7,5 (0)	3,60 (α)	10,05±0,20	91,96±0,25	-0,18±0,03	10,12±0,12	48,83±2,17	-
13	7,5 (0)	1,55 (-α)	12,54±0,12	91,63±0,31	-0,05±0,04	12,93±0,12	31,54±1,13	-

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 16. Coeficientes de regresión y análisis de varianza para las variables respuestas.

Coeficientes	Color				Solubilidad	PVA	Grosor
	ΔE^*	L^*	a^*	b^*	(%)	(gH2O/Pa.s.m)	(µm)
	Y_{11}	Y_{12}	Y_{13} [a]	Y_{14}	Y_2	Y_3	Y_4
Constante							
β_0	13,84337*	86,47356*	-	10,81593*	-32,77694*	-1,01300*	-49,06897*
Lineal							
β_1	-3,98416*	4,24308	-	-1,85411*	13,03154*	0,38993*	19,31609*
β_2	10,74532*	-9,36917	-	6,50927*	21,11637*	0,93655*	30,17241**
Cuadrático							
β_{11}	0,35089**	-0,32178**	-	0,20061**	-1,17169*	-	-
β_{22}	-2,19834*	1,86635*	-	-1,36718*	-3,56647*	-	-
Interacción							
β_{12}	-0,16552	0,068966	-	-0,15402	0,70881	-0,074828	-2,87356
R^2	86,97%	74,54%	-	93,24%	90,95%	67, 94%	62,99%
Valor calculado F	9,34	4,10	-	19,31	66,29	9,89	18,16
Valor critico F	3,97	3,97	-	3,97	2,51	3,34	2,90

[a] No hubo significancia estadística de ningún modelo ni a (P>0,05), ni a (P<0,1).

* Significante a 5%.

** Significante a 10%.

Los datos del color (ΔE*, L* y b*), y solubilidad se ajustaron mejor a un modelo cuadrático (P<0,05):

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

Mientras que el grosor y la PVA se ajustaron mejor a un modelo lineal (p<0,05):

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$$

Los modelos obtenidos para la diferencia de color (Y_{11}), luminosidad (Y_{12}), amarillez-azulez (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 grosor y la humedad tuvieron bajos coeficientes de determinación (R^2 de 67,94%, 61,63%, 35,5%, respectivamente).

5.6. Evaluación de las propiedades físicas de las películas de APSI

5.6.1. Solubilidad (%)

Las solubilidades de las películas elaboradas en el presente trabajo estuvieron en el rango de 27,66 – 48,83%. En la Tabla 5 podemos ver que la diferencia de solubilidades está determinada principalmente por la fuente material de la película y la formulación. El valor más bajo de solubilidad (27,66%) de las películas de APSI es comparable al de películas hechas de aislado proteico de lactosuero (Leuangsukrerk, 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 ricino (Makishi, et al., 2013) que presenta un valor de alrededor de 48,4%.

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, et al., 1993); (McHugh, et al., 1994).

El hecho de que una película sea poco soluble, probablemente dé cuenta de que la red polimérica proteica de tales películas sea altamente estable, en consecuencia solo las pequeñas moléculas sean solubles (e.g. pequeños péptidos, monómeros y materiales no proteicos) (Yoshida, et al., 2004).

El ANOVA de la variable solubilidad (Tabla 16) revela que los dos factores ejercen influencia significativa sobre la solubilidad de las películas de APSI (P<0,05).

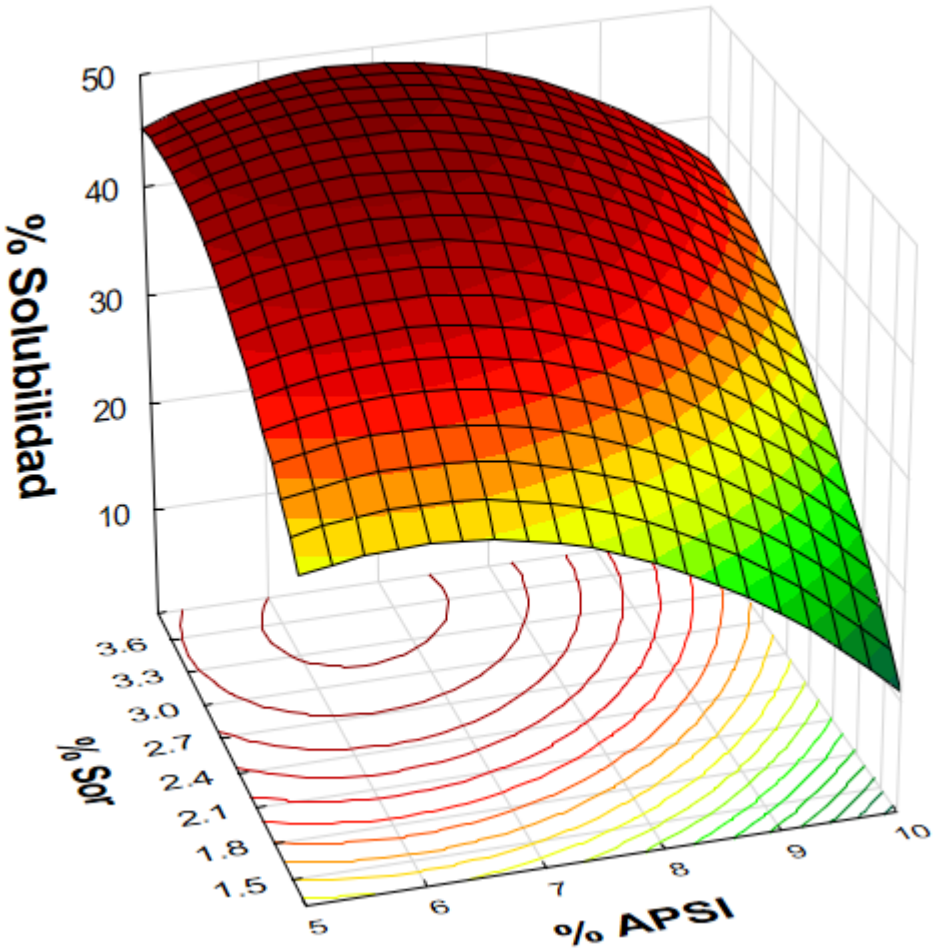

Figura 10. Superficie de Respuesta para la variable Solubilidad como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

La Figura 10 presenta la superficie de respuesta de la solubilidad frente a la concentración de proteína y la concentración de sorbitol. En primer lugar se observa que el efecto de la concentración de Sor es más marcado que la concentración de APSI. En segundo lugar, se aprecia que cuando la concentración de APSI aumenta, la solubilidad disminuye. Por el contrario cuando la concentración de sorbitol aumenta, la solubilidad aumenta. En ella se observa que la superficie de respuesta de la solubilidad muestra un máximo (48,69%) cuando la concentración de proteína es 6,34% de proteína y la concentración de sorbitol es 3,71%, la solubilidad

disminuye por encima y por debajo de estos valores. Conociendo esto se pueden producir películas con menor solubilidad, usando concentraciones de APSI y Sor por debajo de este punto.

5.6.2. Permeabilidad al Vapor de Agua (10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1})

Los valores de PVA de las películas se encontraron en el rango de 2,178 y 3,383 10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}. En la Tabla 6 se presenta valores de PVA de diversas películas comestibles hechas principalmente de concentrados o aislados proteicos vegetales.

Para comparar estos valores se deben tener en cuenta las condiciones de ensayo, ya que tanto de la gradiente de HR como de 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 presentaron mejor barrera al vapor de agua que las películas hechas a base de soya o lenteja, incluso que las películas hechas de gelatina y lactosuero.

El ANOVA (Tabla 16) 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 11 se observa el comportamiento de la PVA respecto a las concentraciones de APSI y Sor. Vemos 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.

El incremento de la PVA con la concentración de proteína 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. El efecto de la concentración de la proteína puede ser más grande cuando la gradiente de HR es alta (Kokoszka, et al., 2010).

De acuerdo a (Cuq, et al., 1997) citado por (Sobral, et al., 2001), el incremento de la PVA con el incremento de la concentración de plastificante la red proteica se explica por la disminución de la densidad de la red proteica y, por consiguiente 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.

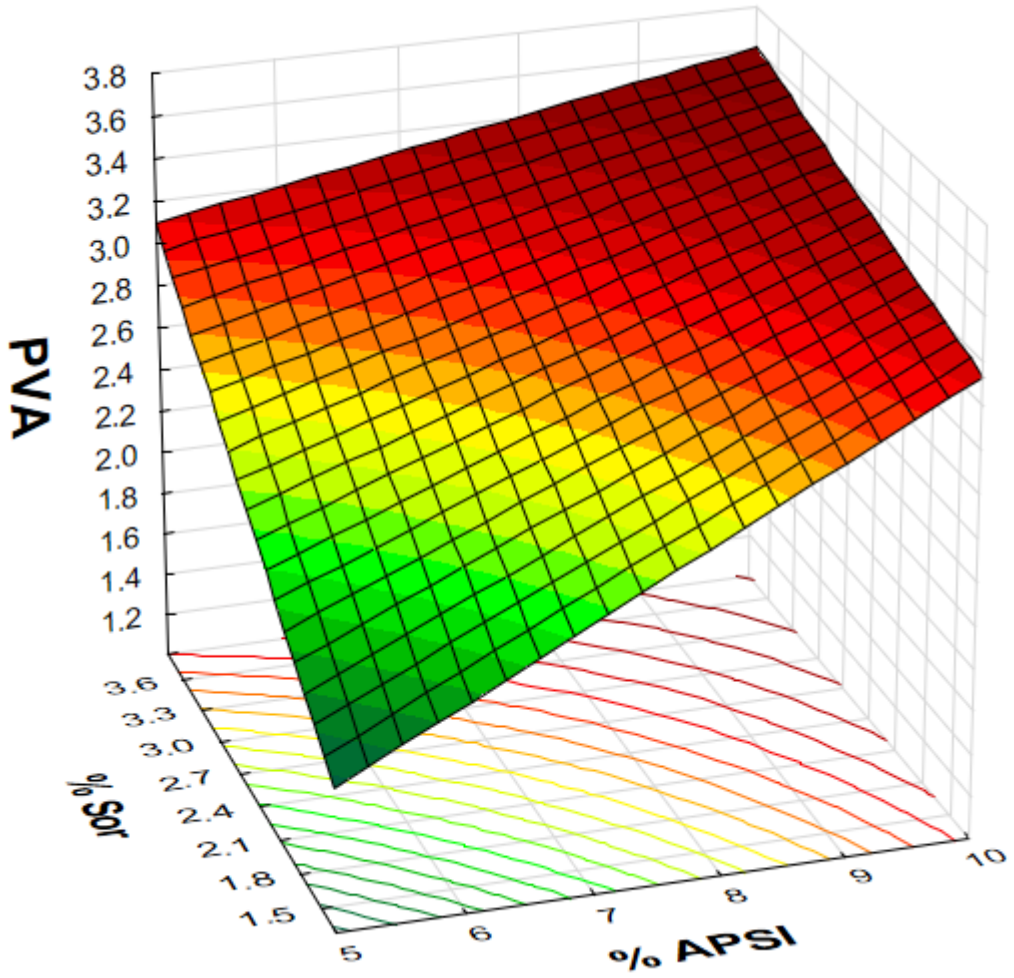

Figura 11. Superficie de Respuesta para la variable PVA como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

5.6.3. Color

Todas las películas a base de APSI elaboradas en este trabajo presentaron tonalidad amarillo-marrón. En la Tabla 17 se presenta los colores de las películas producidas en escala decreciente de su diferencia de color. Estos colores están basados en la gráfica de color CIELAB y fueron determinados utilizando el software online “EasyRGB” (Logicol S.R.L, 2014).

5.6.3.1. Diferencia de Color (ΔE*)

Los valores de ΔE* de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 10.05 - 16.93.

Tabla 17. Color de las películas producidas en escala decreciente de su diferencia de color.

Tratamiento	% APSI	% Sor	Color	ΔE*
T3	9	1.85		16.48
T7	7.5	2.575		14.42
T8	7.5	2.575		14.36
T9	7.5	2.575		14.09
T1	6	1.85		13.47
T11	5.38	2.575		13.44
T6	7.5	2.575		13.32
T4	9	3.3		12.61
T13	7.5	1.55		12.54
T5	7.5	2.575		11.79
T2	6	3.3		10.32
T12	7.5	3.6		10.05

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 7 se puede observar que la diferencia de color fue superior a las películas hechas de gelatina, inferior a las hechas de concentrado proteico de soya y harina de soya desgrasada, pero similar a las hechas a partir de mucílago de chía-concentrado proteico de lactosuero.

Por otro lado, el ANOVA (Tabla 16) para la diferencia de color pone en evidencia que la concentración de APSI y Sor influyeron significativamente sobre la diferencia de color. Dentro de la región experimental, la diferencia de color parece aumentar con el aumento de la concentración de proteína y disminuir con el incremento de la concentración de sorbitol. Sin embargo, se observa que existe una tendencia a alcanzar un punto silla, en el que los factores

Paschoalick, et al., (2003) y Sobral et al., (2005) 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. En este sentido, los valores de ΔE* de las películas de APSI estuvieron bien relacionados con el color ($\Delta E^* = 20{,}23$) del APSI liofilizado.

La disminución de la diferencia de color con el incremento de la concentración de sorbitol fue observada en películas de proteínas muscular de Tilapia de Nilo (Paschoalick, et al., 2003), gelatina (Vanin, et al., 2005), proteínas muscular de Tilapia de Thai (Sobral, et al., 2005), proteína de suero (Ramos, et al., 2013), harina de soya (Lee, et al., 2013). Paschoalick, et al., (2003) explica que este hecho se deba 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.

La Figura 12 presenta la superficie de respuesta de la diferencia de color frente a la concentración de proteína y la concentración de sorbitol. . A medida que la concentración de APSI aumenta, el incremento de ΔE* es cada vez mayor hasta llegar un punto en el que este incremento es casi constante. En contraste, a medida que la concentración de Sor aumenta, el decremento de ΔE* es cada vez mayor hasta llegar a un punto el que este decremento es casi constante.

Cuando se mantiene constante la concentración de sorbitol (2,575%), el comportamiento de la diferencia de color alcanza un mínimo local (13,08%) cuando la concentración de proteína es igual a 6,28%. Por encima y por debajo de este valor la diferencia de color tiende a aumentar. Mientras que cuando se mantiene constante la concentración de proteína, el comportamiento de la diferencia de color alcanza un máximo local (13,97%).

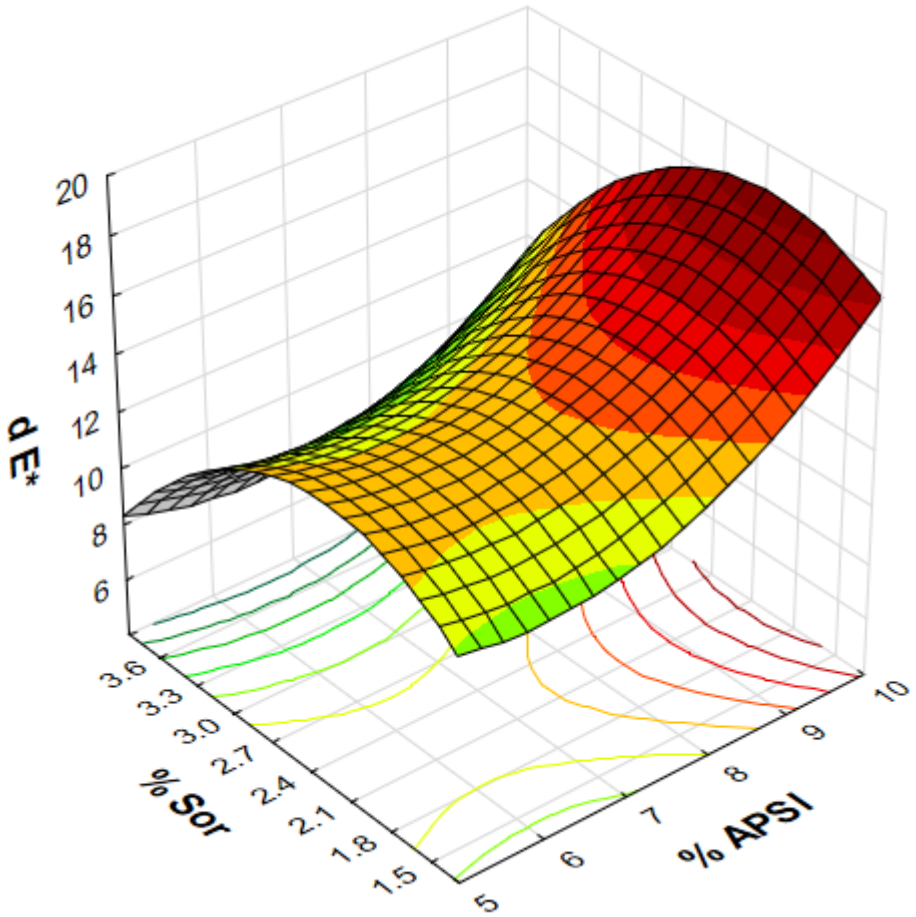

Figura 12. Superficies de respuesta para la diferencia de color (ΔE*) como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

Ella muestra que la mínima diferencia de color tiende a alcanzarse a concentraciones de sorbitol por debajo de 1,2% y por encima de 3,5%, independientemente de la concentración de proteína. Mientras que la máxima diferencia de color se alcanza cuando se utilizan concentraciones de sorbitol entre 1,5% y 2,5% en combinación con proteína por debajo de 4% o por encima de 8%.

5.6.3.2. Claridad (L*)

Los valores de claridad (L*) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 87,61-91,96.

El ANOVA (Tabla 16) para la claridad pone de manifiesto que los dos factores ejercen influencia significativa sobre la claridad de las películas ($P<0,05$).

En la Figura 13 se observa el comportamiento de L* frente a las concentraciones de APSI y Sor. A medida que la concentración de APSI aumenta, el decremento de la claridad es cada vez mayor. Mientras que, cuando la concentración de Sor va en

aumento, las películas son cada vez más claras casi independientemente de la concentración de APSI, por lo que altos valores de concentración de sorbitol (por encima de 3 %) producen colores más claros (altos valores de ΔE*) con casi cualquier concentración de aislado proteico de sacha Inchi (entre 6 y 9%).

Este incremento de la claridad con el contenido de plastificante también fue observado para películas hechas de piel de papa (Kang, et al., 2010), de harina de mostaza (Hendrix, et al., 2012) y de harina de soya desgrasada (Lee, et al., 2013).

El incremento de la claridad como consecuencia de la disminución de la concentración de APSI es notoriamente visible en un rango amplio de concentración de APSI (9-6,5%) más allá del cual (<6,5%) la claridad en vez de aumentar, disminuye. Este comportamiento en particular fue observado para películas compuestas de aislado proteico de soya (APS)-gelatina (Denavi, et al., 2009) en las que la claridad aumentó a medida que la proporción de APS se incrementó.

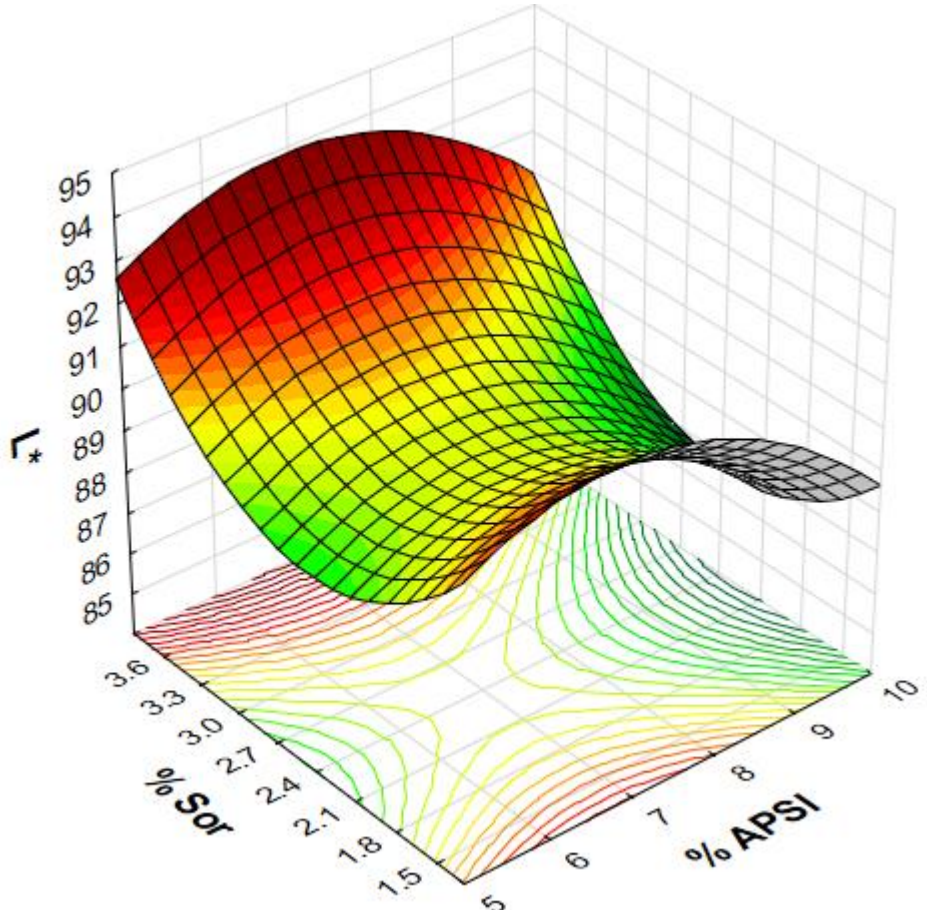

Figura 13. Superficies de respuesta para la Claridad (L*) como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

5.6.3.3. Verdor – Rojez (a*)

Los valores de claridad (a*) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de (-0,18) – (+0,35).

El análisis estadístico de ajuste de la variable a* (ver Tabla 33) 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 dio a entender que ni la concentración de APSI, ni la concentración de Sor influyeron sobre este parámetro de color. Resultado similar a los obtenidos para películas de gelatina (Park, Whiteside, & Cho, 2008), gelatina de bacalao-APS (Denavi, et al., 2009), CPR-glioxal (Makishi, et al., 2013) y CPS (Ciannamea, et al., 2014). No obstante, para películas de HSD-Sistema lactoperoxidasa (Lee, et al., 2013) se observó que un aumento en la concentración de glicerol disminuye el parámetro a*.

5.6.3.4. Azulez – Amarillez (b*)

Los valores de claridad (b*) de las películas elaboradas en este trabajo se encuentran en el rango de 10,12 – 15,46. Cabe resaltar que los valores de b* de todos los tratamientos son positivos, en consecuencia, el color de las películas tienden hacia tonalidades amarillas.

Películas de proteína de músculo de tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Paschoalick, et al., 2003), de gelatina de piel de hailibut (*Hippoglossus hippoglossus*) (Carvalho, et al., 2008), concentrado proteico de lactosuero (Ramos, et al., 2013) y harina de soya desgradada (Lee, et al., 2013) fueron caracterizadas mejor por el parámetro b* debido que presentaron tonalidades amarillas.

El ANOVA del parámetro b* (Tabla 16) revela que los dos factores ejercen influencia significativa sobre parámetro b* de las películas (P<0,05). De modo que, a medida que la concentración de APSI aumenta el incremento del color amarillo de la película es cada vez mayor hasta un punto en el que el incremento es casi constante. Mientras que el incremento de la concentración de Sor provoca que la película sea cada vez menos amarilla.

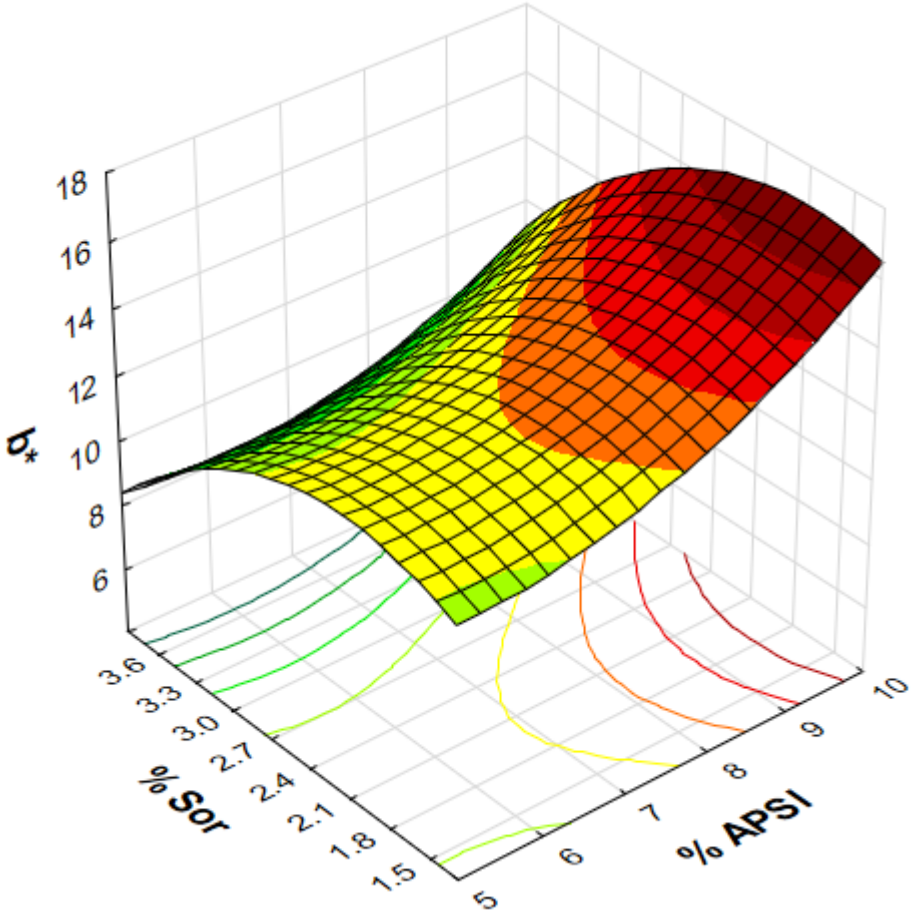

Figura 14. Superficie de Respuesta para b* como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

El incremento de b* frente a APSI fue observado en películas de APS-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, et al., 2013).

La Figura 14 pone de manifiesto que se alcanza valores ligeramente altos de b* a concentraciones altas de APSI (mayores a 7,8 %) y a bajas concentraciones de Sor (1,85 – 2,5%).

5.6.4. Contenido de humedad (%)

El promedio del contenido de humedad (%) de las películas de APSI fue de 9,23 ± 1,81% (7,03 – 11,86 %) (Tabla 15). Estos valores son menores que los reportados en varios estudios acerca de películas proteicas (Tabla 18).

Algunos autores comprobaron que el tipo de plastificante usado influye sobre el contenido humedad de las películas resultantes. Esto debido a la diferencia de hidrofilicidad e higroscopicidad de los plastificantes empleados en la elaboración de películas (Vanin, et al., 2005), (Cao, et al., 2009), (Kowalczyk, et al., 2011). Estos últimos determinaron que el contenido de humedad de las películas de proteína de arverja plastificadas con glicerol fue mayor que las películas plastificadas con sorbitol (P<0,05).

Tabla 18. Contenido de Humedad (%) de algunas películas comestibles.

Película	Condiciones de Acondicionamiento (T, HR)		Contenido de Humedad (g H_2O/100 g película)
Películas de origen vegetal			
Casting APSI – Sor; pH 11; T_p/θ_p: 85°C/1 h	**23°C**	**54%**	**9,23 ± 1,81 % (Este trabajo)**
Casting 5% CPL- 0,5 (Gli/CPL); pH 11; T_p/θ_p: 70°C/20 min	25°C	50%	23,15 ± 1,6 (Bamdad, et al., 2006)
Casting 5% APS – 0,5 (Gli/APS); pH 10; T_p/θ_p: 70°C/20 min	25°C	50%	25,2 ± 1,0 (Rhim, et al., 1998)
Casting 10% APTZ - 0,25 (Gli/APTZ); pH 12; T_p/θ_p: 90°C/20 min	25°C	75-80%	11,11 (Popović, et al., 2012)
Películas de origen animal			
Casting 7% APLS – 0,28 (Gli/GE); pH 7; T_p/θ_p: 90°C/30 min	23 ± 2	50±3%	16,48 ± 1,5 (Gounga, et al., 2007)
Casting 1% GE^1% PVA – 0,25 (Sor/GE); pH natural; T_p/θ_p: 55°C y 90°C/30 min	25°C	58%	13,1 ± 0,9 (Carvalho, et al., 2009)
Casting 1% GE^1% PVA – 0,25 (Gli/GE); pH natural; T_p/θ_p: 55°C y 90°C/30 min	25°C	58%	16,5 ± 0,6 (Carvalho, et al., 2009)

Gli, Glicerol; APS, Aislado proteico de soya; CPL, Concentrado proteico de lenteja; GE, Gelatina; Aislado Proteico de Torta de Semillas de Zapallo; APLS: Aislado Proteico de Lactosuero. PVA: Alcohol Polivinílico. Fuente: Elaboración propia

El ANOVA (Tabla 16) para el contenido de 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 falta de influencia del contenido de sorbitol sobre el contenido de humedad también fue reportada por Kowalczyk, et al., (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 (Vanin, et al., 2005), (Schou, et al., 2005), (Kowalczyk, et al., 2011), (Ramos, et al., 2013), y (Ciannamea, et al., 2014), que son más hidrófilos que el sorbitol.

Por su parte, la ausencia del efecto del contenido de proteína sobre el contenido de humedad, también 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).

5.6.5. Grosor (µm)

El grosor de las películas obtenidas en el presente trabajo fue de 118 ± 16,12 µm. Este resultado se obtuvo vaciando el mismo volumen (15 ml) a la placa de soporte donde las películas fueron formadas, intentando evaluar la influencia de las variables sobre el grosor resultante en las películas

El ANOVA del grosor (Tabla 16) puso de manifiesto que la concentración de APSI y de Sor influyeron significativamente sobre el grosor ($P<0,05$). Siendo la concentración de APSI la que más influye sobre el grosor dado su alto porcentaje de contribución sobre la varianza del grosor (54,43%) frente al Sor (5,96%).

En la Figura 15 se presenta la superficie de respuesta del grosor, donde se observa el comportamiento del grosor de las películas de APSI frente a la concentración de APSI y Sor. Allí se observa que el grosor 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 grosor con el incremento la concentración de proteína en películas de piel de peces *Priacanthus macracanthus* y *Lutjanus vitta* (Jongjareonrak, et al., 2006), películas de aislado proteico de lactosuero (Gounga, et al., (2007); Kokoszka, et al., (2010)). También se observó que la fuente de proteína influye sobre el grosor de las películas, por ejemplo, con

la misma concentración de proteína, soluciones filmogénicas de gelatina dieron lugar a películas más gruesas que las hechas con aislado proteico de soya. 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 (Denavi, et al., 2009).

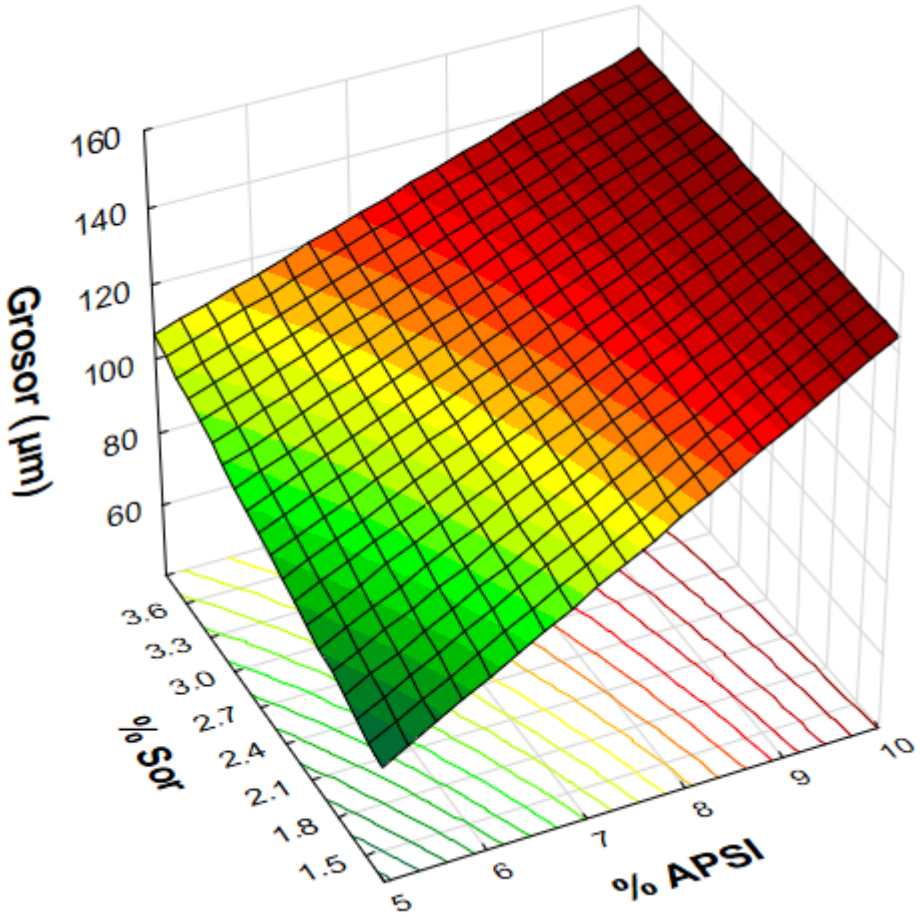

Figura 15. Superficie de Respuesta para la variable grosor como una función de la concentración de APSI (%) y la concentración de Sor (%).

La influencia del peso molecular del plastificante sobre el grosor de las fue observado cuando se utilizó polietilenglicol en películas de gelatina, tendiendo a incrementarse el grosor con el peso molecular (Cao, et al., 2009).

Schou, et al., (2005) observaron que el contenido de glicerol no influyó significativamente sobre el grosor 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 extructura proteico, 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, Xu, & Wang, (2007) observaron un

ligero incremento del grosor con la concentración de glicerol en películas de aislado proteico de lactosuero, pero no significativo.

Janchud & Chinnan, (1999) observaron que el grosor de películas hechas de proteína de maní se incrementaron 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 extructura (Jastrzebski, 1987).

5.7. 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 (Ver Figura 16) 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 10^{-10} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}, respectivamente.

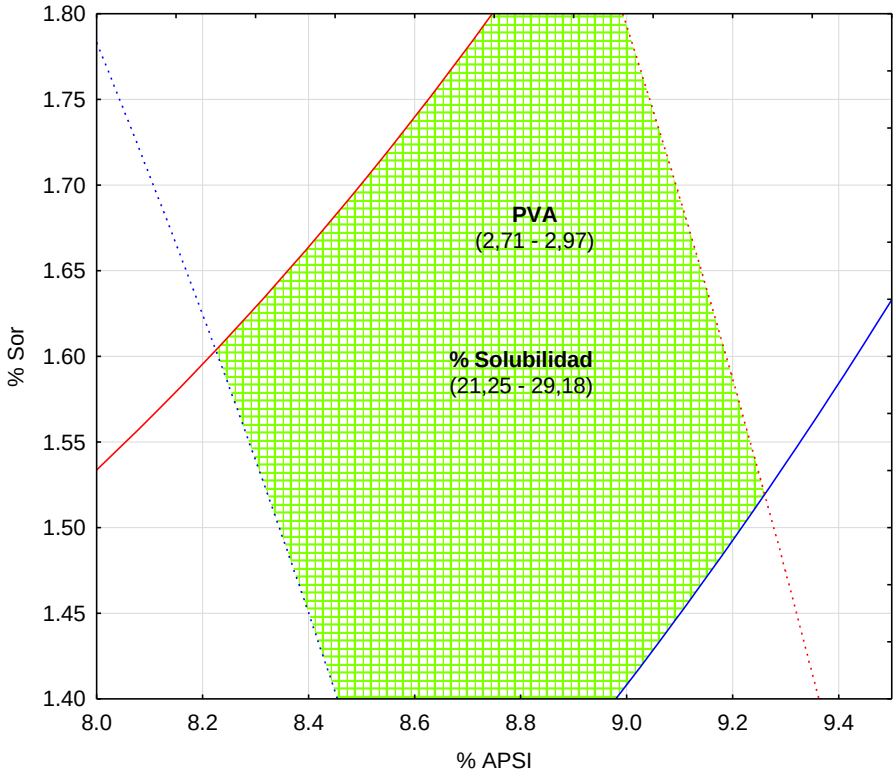

Figura 16. Superposición de las gráficas de contorno de las variables PVA y solubilidad (%)

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.

VI. CONCLUSIONES

1. Se logró obtener películas comestibles y/o biodegradables utilizando como materia prima, las proteínas extraídas de la torta de Sacha Inchi. Las propiedades de las películas basadas en proteína de Sacha Inchi fueron comparables con otras películas comestibles, tales como soya, lenteja, alverja, lactosuero en términos de color, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua.
2. La extracción alcalina de proteínas por el ajuste de pH usada en este trabajo es ampliamente usada para extraer proteínas. La principal ventaja de este proceso incluye alto rendimiento y viabilidad económica.
3. Se constató un efecto significativo de la concentración de proteína y sorbitol sobre algunas propiedades físicas evaluadas. Esto significa que estas pueden ser modificadas cambiando la formulación de la película. En el caso de la solubilidad, el incremento de la concentración de proteína y sorbitol, ocasiona decremento e incremento de la solubilidad, respectivamente. En el caso de la permeabilidad, esta se incrementa con la concentración de APSI. Para la diferencia de color ΔE^* el incremento de la concentración de proteína y sorbitol produce incremento y decremento de la diferencia de color. Para la claridad L^*, esta tiende a disminuir con el incremento de la concentración de APSI, mientras que aumenta con el incremento de la concentración de sorbitol. El análisis estadístico del parámetro a^* revela que las películas no poseen tonalidades rojas o verdes. Para el parámetro b^* (azules-amarillez), el incremento de la concentración de APSI y sorbitol produce incremento y decremento de la tonalidad amarilla de la película, respectivamente. Para el contenido de humedad, no hubo un efecto significativo concluyente de ninguna de las dos variables. Por último, el grosor puede ser modificado incrementando el contenido de materia seca, principalmente APSI.
4. Se pudo establecer las combinaciones óptimas de proteína y sorbitol para producir películas con adecuadas propiedades físicas, es decir, baja permeabilidad y baja solubilidad. Utilizando concentraciones de sorbitol y proteína comprendidos entre 1,55% - 1,80% y 8,2% - 9,3%, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Estudiar el efecto del medio alcalino sobre los aminoácidos del Sacha Inchi, ya que durante el proceso de extracción alcalina se pueden generar compuestos racémicos indeseables que podrían influir sobre las propiedades funcionales de los concentrados, y las propiedades de las películas. Por ello se recomienda estudiar el efecto del pH sobre el perfil aminoacídico de los concentrados y aislados proteicos de Sacha Inchi.
2. Realizar trabajos con adición de lípidos y resinas, y con tratamientos de reticulación para disminuir la permeabilidad al vapor de agua y la solubilidad.
3. Se recomienda que se lleven a cabo trabajos de investigación en la determinación de isotermas de sorción, propiedades térmicas, de barrera a gases, aromas y aceites, propiedades mecánicas, viscoelásticas y estructurales de las películas, y cómo éstas son influidas por las variables de proceso como tratamiento térmico, temperatura de secado, pH, incorporación de agentes reticulantes, método de formación (extrusión, moldeo por soplado), entre otros.
4. Evaluar el efecto del recubrimiento de la película de APSI sobre la conservación de frutas y verduras.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agroindustrias Amazónicas. (2005). Información Clasificada de Agroindustrias Amazónicas. 36. Lima.

Aguirre, A., Borneo, R., & León, A. E. (2013). Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing-antiplasticizing effects of glicerol and sorbitol. *Industrial Crops and Products*, 297-303. doi:10.1016/j.indcrop.2013.07.043

Anker, M. (2000). Edible and biodegradable whey protein films as barriers in foods and food packaging. *Dokstosavhandlingar vid Chalmers Tekniska Hogskola*, 1-169.

Anker, M., Stading, M., & Hermansson, A. -M. (1999). Effects of pH and the gel state on the mechanical properties, moisture contents, and glass transition temperatures of whey protein films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1878-1886. doi:10.1021/jf981115d

Anónimo. (Sept. de 1993). Biodegradable Polymers Forge Ahead. *Biocycle*, 72-74.

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.

Arévalo, G. (s/a). El cultivo del sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) en la Amazonía. Tarapoto: PRONARGEB, Estación Experimental El Porvenir.

ASTM. (1992). Designation F119-82: Standard Test Method for Rate of Grease Penetration of Flexible Barrier Materials. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995a). Designation D 523: Standard Test Method for Specular Gloss. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995b). Designation D 1925: Standard Test Method for Yellowness Index of Plastics. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995c). Designation D 3985-95: Standard Test Method for Oxygen Gas Transmition Rate through Plastic Films and Sheeting Using a Coulometric Sensor. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995d). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. *ASTM E96: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*. Washington, D.C., Washington, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995e). Designation F 1249-90: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission Rate through Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1997). Designation D 882-97: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.

Aydemir, L. Y., Gokbulut, A. A., Baran, Y., & Yemenicioglu, A. (2014). Bioactive, functional and edible film-forming properties of isolated hazelnut (Corylus avellana L.) meal proteins. *Food Hydrocolloids*, 130-142. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.09.014

Baldwin, E. (1999). Surface Treatments and Edible Coatings in Food Preservation. En M. S. Rahman, *Handbook of Food Preservation* (págs. 577-609). New York: Marcel Dekker.

Bamdad, F., Goli, A. H., & Kadivar, M. (2006). Preparation and characterization of proteinous film from lentil (Lens culinaris) Edible film from lentis (Lens culinaris). *Food Research International*, 106-111. doi:10.1016/j.foodres.2005.06.006

Betancourth-López, C. F. (2013). Aprovechamiento de la torta residual de sacha inchi (Plukenetia volubilis Linneo) mediante extracción por solventes de su aceite. *Tesis de Maestría*. Manizales, Colombia: Universidad de Manizales. Obtenido de

http://ridum.umanizales.edu.co:8080/jspui/bitstream/6789/970/2/Betancourth_L%C3%B3pez_Cristhian_Fernando_2013.pdf

Bourtoom, T., Chinnan, M. S., Jantawat, P., & Sanguandeekul, R. (2006). Effect of plasticizer type and concentration on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. *Food Science and Technology International*, 119-126. doi:10.1177/1082013206063980

Cao, N., Yang, X., & Fu, Y. (2009). Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 729-735. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.07.017

Carvalho, R. A., Maria, T. C., Moraes, I. F., Bergo, P. A., Kamimura, E. S., Habitante, A. Q., & Sobral, P. A. (2009). Study of some physical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) using a response-surface methodology. *Materials Science and Engineering C*, 485-491. doi:10.1016/j.msec.2008.08.030

Carvalho, R. A., Sobral, P., Thomazine, M., Habitante, A. Q., Giménez, B., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2008). Development of edible films based on differently processed Atlantic halibut (Hippoglossus hippoglossus) skin gelatin. *Food Hydrocolloids*, 1117-1123. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.06.003

Chan, M. A. (2000). Oil-and Oxygen-Barrier Properties of Whey-Protein-Coated Paper. *M.S. Thesis*. USA: University of California, Davis.

Chang, C., & Nickerson, M. T. (2015). Effect of protein and glycerol concentration on the mechanical, optical, and water vapor barrier properties of canola protein isolated-based edible films. *Food Science and Technology International*, 33-44. doi:10.1177/1082013213503645

Chawla, S., & Gupta, R. (1993). *Materials Selection for Corrosion Control.* United States of America: ASM International.

Cheftel, J. C., Cuq, J. L., & Lorient, D. (1985). Amino acids, Peptides, and Proteins. En O. R. Fennema, *Food Chemistry* (págs. 245-369). New York: Marcel Dekker.

Ciannamea, E. M., Stefani, P. M., & Ruseckaite, R. A. (2014). Physical and mechanical properties of compression molded and solutions casting soybean protein concentrate based films. *Food Hydrocolloids*, 193-204. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.12.013

Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., & Guilbert, S. (1997). Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 622-626. doi:10.1021/jf960352i

De Mulder-Johnston, C. (1999). Thermal Analysis of, and Oil Migration through Films from, Whey Protein Isolate. *Ph.D. Thesis*. USA: University of California, Davis.

Debeaufort, F., & Voilley, A. (1994). Aroma Compound and Water Vapor Permeability of Edible Films and Polymeric Packagings. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 2871-2875. doi:10.1021/jf00048a041

Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., & Voilley, A. (1998). Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A review. *Critical Reviews in Food Science*, 299-313. doi:10.1080/10408699891274219

Delassus, P. (1997). Barrier polymers. En A. L. Brody, & K. S. Marsh, *The Wiley Encyclopedia of packaging technology* (págs. 71-77). New York: Wiley.

Denavi, G. A., Pérez-Mateos, M., Añón, M. C., Montero, P., Mauri, A. N., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. *Food Hydrocolloids*, 2094-2101. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.03.007

Elsevier B.V. (Noviembre de 2015). *SCOPUS*®. Obtenido de SCOPUS®: www.scopus.com

Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Sci. Technolo.*, 292-303. doi:10.1016/j.tifs.2011.02.004

Fang, Y., Tung, M. A., Britt, I. J., Yada, S., & Dalgleish, D. G. (2002). Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *Journal of Food Science*, 188-193. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb11381.x

Gennadios, A., Weller, C. L., & Gooding, C. H. (1994). Measurements Errors in Water Vapor Permeability of Highly Permeable, Hydrophilic Edible Films. *Journal of Food Engineering*, 395-409. doi:10.1016/0260-8774(94)90062-0

Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A., & Froning, G. W. (1996). Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal of Food Science*, 585-589. doi:10.1111/j.1365-2621.1996.tb13164.x

Gilbert, S., & Pegaz, D. (1969). Find New Way to Measure Gas Permeability. *Packaging Engineering*, 66-69.

Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 190-195. doi:10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x

Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 206-211. doi:10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x

GORESAM - DRASAM. (s/a). *Serie histórica de superficies existentes, cosecha y producción de cultivos permanentes y semipermanentes.* Obtenido de Dirección Regional de Agricultura - San Martín: http://www.agrodrasam.gob.pe/sites/default/files/CULTIVOSPERAMNTES.pdf

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biurect reaction. *J Biol Chem*, 751-766.

Gounga, M. E., Xu, S.-Y., & Wang, Z. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio y pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, 521-530. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.04.008

Guérin-Dubiard, C., & Audic, J.-L. (2007). Egg-protein-based films and coatings. En R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, & R. Schade, *Bioactive Egg Compounds* (págs. 265-273). Heidelberg: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-3-540-37885-3_31

Han, J. H. (2014). Edible Films and Coatings: A review. En J. H. Han, *Innovations in Food Packaging* (págs. 213-255). Plano, Texas: Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6

Hanani, Z. A., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94-102. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.04.027

Handa, A., Gennadios, A., Froning, G. W., Kuroda, N., & Hanna, M. A. (1999). Tensile, Solubility, and Electrophoretic Properties of Egg White Films as Affected by Surface Sulfhydryl Groups. *Journal of Food Science*, 82-85.

Handa, A., Gennadios, A., Froning, G. W., Kuroda, N., & Hanna, M. A. (1999). Tensile, Solubility, and Electrophoretic Properties of Egg White Films as Affected by Surface Sulfhydryl Groups. *Journal of Food Science*, 82-85. doi:10.1111/j.1365-2621.1999.tb09865.x

Hendrix, K. M., Matthew, J. M., Lee, H. B., & Min, S. C. (2012). Defatted mustard seed meal-based biopolymer film development. *Food Hydrocolloids*, 118-125. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.04.013

Hernandez, R. J., Giacin, J. R., & Baner, A. L. (1986). The Evaluation of the Aroma Barrier Properties of Polymer Films. *Journal of Plastic Film Sheeting*, 187-211. doi:10.1177/875608798600200304

Instituto Nacional de Salud. (2009). *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos.* Obtenido de Instituto Nacional de Salud: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf

International Union of Pure and Applied Chemistry. (2014, Febrero 24). *Compendium of Chemical Teminology.* (M. Nic, J. Jirat, & B. Kosata, Eds.) Retrieved from http://goldbook.iupac.org/GT07138.html

Jangchud, A., & Chinnan, M. S. (1999). Properties of Peanut Protein Film: Sorption Isotherm and Plasticizer Effect. *LWT*, 89-94. doi:10.1006/fstl.1998.0498

Jastrzebski, Z. D. (1987). *The nature and properties of engineering materials.* New York: John Wiley & Sons.

Jian, J., Xiong, Y. L., Newman, M. C., & Rentfrow, G. K. (2012). Structure-modifying alkaline and acidic pH-shifting processes promote film formation of soy proteins. *Food Chemistry*, 1944-1950. doi:10.1016/j.foodchem.2011.12.030

Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T., & Tanaka, M. (2006). Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. *Food Hydrocolloids*, 492-501. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.04.007

Kang, H. J., & Min, S. C. (2010). Potato peel-based biopolymer film development using high-pressure homogenization, irradiation, and ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, 903-909. doi:10.1016/j.lwt.2010.01.025

Kim, K. M., Marx, D. B., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (2003). Influence of sorghum wax, glycerin, and sorbitol on physical properties of soy protein isolate films. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71-76. doi:10.1007/s11746-003-0653-9

Kim, S. -J., & Ustunol, Z. (2001). Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4388-4391. doi:10.1021/jf010122q

Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., & Voilley, A. (2010). Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 503-510. doi:10.1016/j.ifset.2010.01.006

Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A., & Voilley, A. (2010). Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. *International Dairy Journal*, 53-60. doi:10.1016/j.idairyj.2009.07.008

Kowalczyk, D., & Baraniak, B. (2011). Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *Journal of Food Engineering*, 295-305. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.02.037

Krochta, J. (2002). Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. En A. Gennadios, *Protein-Based Films and Coatings* (págs. 1-41). Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.

Krochta, J. M., & De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and Biodegradable Polymer Films: Chalenges and Opportunities. *Food Technology*, 61-74.

Lee, H., & Min, S. C. (2013). Antimicrobial edible defatted soybean meal-based films incorporating the lactoperoxidase system. *LWT - Food Science and Technology*, 42-50. doi:10.1016/j.lwt.2013.05.012

Leuangsukrerk, M., Phupoksakul, T., Tananuwong, K., Borompichaichartkul, C., & Janjarasskul, T. (2014). Properties of konjac glucomannane-whey protein isolate blend films. *LWT - Food Science and Technology*, 94-100. doi:10.1016/j.lwt.2014.05.029

Logicol S.R.L. (2014, Noviembre 12). *EasyRGB*. Retrieved from EasyRGB Web Site: http://www.easyrgb.com/

Makishi, G., Lacerda, R. S., Bittante, A. Q., Chambi, H. M., Costa, P. A., Gomide, C. A., . . . Sobral, P. A. (2013). Films based on castor bean (Ricinus communis L.) proteins crosslinked with glutaraldehyde and glyoxal. *Industrial Crops and Products*, 375-382. doi:10.1016/j.indcrop.2013.07.025

Martelli, S. M., Moore, G., Silva-Paes, S., Gandolfo, C., & Borges-Laurindo, J. (2006). Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. *LWT*, 292-301. doi:10.1016/j.lwt.2004.12.014

McHugh, T. H., & Krochta, J. M. (1994). Milk protein based edible films and coatings. *Food Technology*, 97-103.

McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R. D., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 899-903. doi:10.1111/j.1365-2621.1993.tb09387.x

McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. *Journal of Food Science*, 899-903.

Mendieta-Taboada, O., De Carvalho, R. A., & Sobral, P. D. (2008). Dynamic-mechanical analysis: Applications in edible film technology - A review. *Quimica Nova*, 384-393. doi:10.1590/S0100-40422008000200035

Mendieta-Taboada, O., Sobral, P., Carvalho, R., & Habitante, A. (2008). Thermomechanical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol). *Food Hydrocolloids*, 1485-1492. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.10.001

Miller, K. S., & Krochta, J. M. (1998a). Measuring Aroma Transport in Polymer Films. *Trans. ASAE*, 427-433.

Miller, K. S., Upadhyaya, S. K., & Krochta, J. M. (1998). Permeability of D-limonen in whey protein films. *Journal of Food Science*, 244-247. doi:10.1111/j.1365-2621.1998.tb15718.x

Monterrey-Quintero, E. S., & Do Amaral Sobral, P. J. (2000). Extraction and Properties of Nile Tilapia Myofibrillar proteins for edible films. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 179-189. doi:10.1590/S0100-204X2000000100020

Montgomery, D. C. (2013). *Design and Analysis of Experiments* (Eight ed.). John Wiley & Sons.

Muñoz, L. A., Aguilera, J. M., Rodriguez-Turienzo, L., Cobos, A., & Díaz, O. (2012). Characterization and microstructure of films made from mucilage of Salvia hispanica and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 511-518. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.02.031

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York: Freeman and Company.

Nemet, N. T., Šošo, V. M., & Lazić, V. L. (2010). Effect of glycerol content and pH value of film-forming solution on the functional properties of protein-based edible films. *Acta Periodica Technologica*, 57-67. doi:10.2298/APT1041057N

Ozdemir, M., & Floros, J. D. (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. *Journal of Food Engineering*, 215-224. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.09.028

Park, H. J., & Chinnan, M. S. (1995). Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, 497-507. doi:10.1016/0260-8774(94)00029-9

Park, H. J., Byun, Y. J., Kim, Y. T., Whiteside, W. S., & Bae, H. J. (2014). Processes and Applications for Edible Coating and Film Materials from Agropolymers. En J. H. Han, *Innovations in Food Packaging* (págs. 257-275). TX, USA: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00010-2

Park, J. W., Whiteside, W. S., & Cho, S. Y. (2008). Mechanical and water vapor barrier properties of extruded and heat-pressed gelatin films. *LWT*, 692-700. doi:10.1016/j.lwt.2007.04.015

Paschoalick, T. M., Garcia, F. T., Sobral, P. A., & Habitante, A. Q. (2003). Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. *Food Hydrocolloids*, 419-427. doi:10.1016/S0268-005X(03)00031-6

Pascual, G., & Mejía, M. (Enero-Marzo de 2000). Extracción y caracterización de aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.). *Anales Científicos*. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.

Pérez-Gago, M. B., Nadaud, P., & Krochta, J. M. (1999). Water Vapor Permeability, Solubility, and Tensile Properties of Heat-Denatured versus Native Whey Protein Films. *Journal of Food Science*, 1034-1037. doi:10.1111/j.1365-2621.1999.tb12276.x

Petersen, K., Nielsen, P. V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nilsson, N. H., & Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 52-68. doi:10.1016/S0924-2244(99)00019-9

Peyron, A. (1991). L'enrobage et les produits filmogenes: un nouveau mode démballage. *Viandes Prod. Cares*, 41-46.

Popović, S., Peričin, D., Vaštag, Ž., Lazić, V., & Popović, L. (2012). Pumpkin oil cake protein isolate films as potential gas barrier coating. *Journal of Food Engineering*, 374-379. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.12.035

Ramos, Ó. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., . . . Malcata, F. X. (2013). Effect of whey protein purity and glicerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 110-122. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.001

Rhim, J. -W., Gennadios, A., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (1998). Soy protein isolate-dialdehyde starch films. *Industrial Crops and Products*, 195-203. doi:10.1016/S0926-6690(98)00003-X

Rocha-Plácido, G. M., Martelli, M. S., Gandolfo, C., do Amaral-Sobral, J. P., & Borges, L. J. (2006). Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. *Food Hydrocolloids*, 975-982. doi:10.1016/j.foodhyd.2005.11.001

Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technology*, 438-447. doi:10.1016/j.tifs.2009.05.002

Roy, S., Weller, C. L., Gennadios, A., Zeece, M. G., & Testin, R. F. (1999). Physical and Molecular Properties of Wheat Gluten Films Cast from Heated Film-Forming Solutions. *Journal of Food Science*, 57-60. doi:10.1111/j.1365-2621.1999.tb09860.x

Saetae, D., Kleekayai, T., Jayasena, V., & Suntornsuk, W. (2010). Functional Properties of Protein Isolate Obtained from Physic Nut (Jatropha curcas L.) Seed Cake. *Food Science Biotechnology*, 29-37. doi:10.1007/s10068-011-0005-x

Salgado, P. (2009). *Proteínas de girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria (tesis doctoral).* Argentina: Universidad Nacional de La Plata.

Salgado, P. R., Molina-Ortiz, S. E., Petruccelli, S., & Mauri, A. N. (2010). Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. *Food Hydrocolloids*, 525-533. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.12.002

Saremnezhad, S., Azizi, M. H., Barzegar, M., Abbasi, S., & Ahmadi, E. (2011). Properties of a new edible film made of faba bean protein isolate. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 181-192. Obtenido de http://journals.modares.ac.ir/article_4697_62355830ca64b18cfda2ee225ab15b74.pdf

Sathe, S. K., Hamaker, B. R., Sze-Tao, K. C., & Venkatachalam, M. (2002). Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from

Inca Peanut (Plukenetia volubilis). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4906-4908. doi:10.1021/jf020126a

Sathe, S. K., Kshirsagar, H. H., & Sharma, G. M. (2012). Solubilization, Fractionation, and Electrophoretic Characterization of Inca Peanut (Plukenetia volubilis L.) Proteins. *Plant Foods for Human Nutrition*, 247-255. doi:10.1007/s11130-012-0301-5

Schou, M., Longares, A., Montesinos-Herrero, C., Monahan, F. J., O'Riordan, D., & O'Sullivan, M. (2005). Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. *LWT*, 605-610. doi:10.1016/j.lwt.2004.08.009

Silva, G. D., Sobral, P. A., Carvalho, R. A., Bergo, P. A., Mendieta-Taboada, O., & Habitante, A. Q. (2008). Biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol): Effect of PVA type or concentration on some physical properties of films. *Journal of Polymers and the Environment*, 276-285. doi:10.1007/s10924-008-0112-9

Sobral, P. A., dos Santos, J. S., & García, F. T. (2005). Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. *Journal of Food Engineering*, 93-100. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.09.015

Sobral, P., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D., & Roques, M. A. (2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 423-432. doi:10.1016/S0268-005X(01)00061-3

Thermo Fisher Scientific. (2015). *Overview of Crosslinking and Protein Modification*. Obtenido de Thermo Fisher Scientific: https://www.thermofisher.com/pe/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-crosslinking-protein-modification.html

Tommonaro, G., Segura-Rodríguez, C. S., Santillana, M., Immirzi, B., De Prisco, R., Nicolaus, B., & Poli, A. (2007). Chemical composition and biotechnological properties of a polysaccharide from the peels and antioxidative content from the pulp of Passiflora liguralis fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7427-7433. doi:10.1021/jf0704615

Torres, F., Troncoso, O., Torres, C., Díaz, D., & Amaya, E. (2011). Biodegradability and mechanical properties of starch films from Andean crops. *International Journal of Biological Macromolecules*, 603-606. doi:10.1016/j.ijbiomac.2011.01.026

Trezza, A. F., & Vergano, P. J. (1994). Grease Resistance of Corn Zein Coated Paper. *Journal of Food Science*, 912-915. doi:10.1111/j.1365-2621.1994.tb08156.x

University of Southern Mississippi. (2005). *The Glass Transition*. Obtenido de http://pslc.ws/macrog/tg.htm

Valles, C. (1990). El “sacha inchi”, planta nativa de importancia proteica y aceitera promisoria para la selva alta. (Separata, Entrevistador)

Vanin, F. M., Sobral, P., Menegalli, F. C., Carvalho, R. A., & Habitante, A. Q. (2005). Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properites of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids*, 899-907. doi:10.1016/j.foodhyd.2004.12.003

Waller Jr., G., & Baker, G. (1953). Calcium pectinate films-Application of the reversion of the molecularly dehydrated sodium phosphates in filming. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1213-1219. doi:10.1021/jf60020a007

Wu, Y., Weller, C. L., Hamouz, F., Cuppett, S. L., & Schnepf, M. (2002). Development and application of multicomponent edible coatings and films: a review. *Adv. Food. Nutr.*, 347-394. doi:10.1016/S1043-4526(02)44007-7

Yoshida, C. M., & Antunes, A. J. (2004). Characterization of whey protein emulsion films. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 247-252. doi:10.1590/S0104-66322004000200014

ANEXOS

ANEXO A. Fotografías del proceso de obtención del aislado proteico

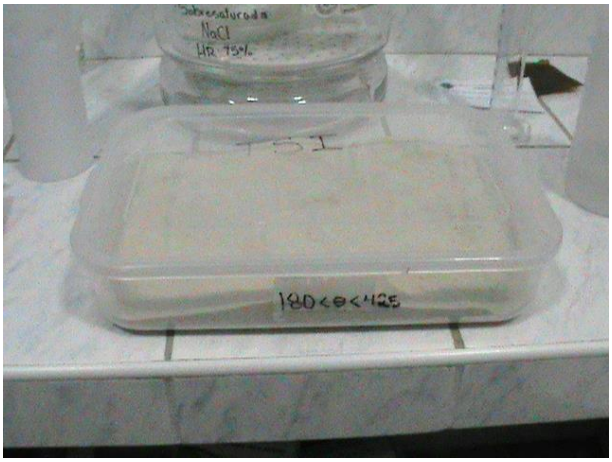

Foto 1. Torta de Sacha Inchi molida y tamizada.

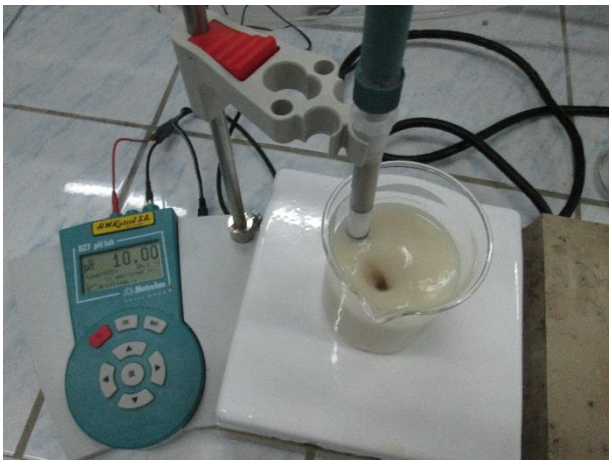

Foto 2. Solubilización de la proteína de Sacha Inchi en medio alcalino.

Foto 3. Mezcla obtenida luego del proceso de solubilización.

Foto 4. Separación de la proteína solubilizada (sobrenadante) y del residuo (sedimento).

Foto 5. A la derecha, el sobrenadante obtenido.

Foto 6. Precipitación isoeléctrica de las proteínas a partir del sobrenadante.

Foto 7. Formación del precipitado proteico tras alcanzar el punto isoeléctrico.

Foto 8. Separación del precipitado mediante centrifugación.

Foto 9. Precipitado acondicionado para ser congelado.

Foto 10. Liofilizador LABCONCO utilizado para deshidratar el aislado proteico.

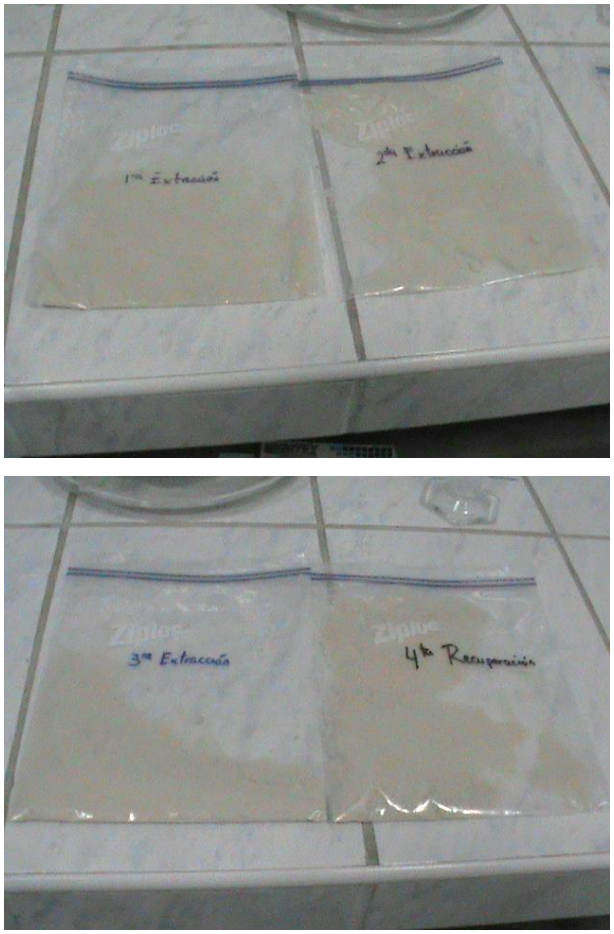

Foto 11. Aislado proteico de Sacha Inchi liofilizado

ANEXO B. Fotografías de la preparación de películas comestibles y/o biodegradables

Foto 12. Películas obtenidas en el primer proceso exploratorio de las condiciones para su formación.

Foto 13. Películas obtenidas en el segundo proceso exploratorio de las condiciones para su formación.

Foto 14. Películas obtenidas en el tercer proceso exploratorio de las condiciones para su formación.

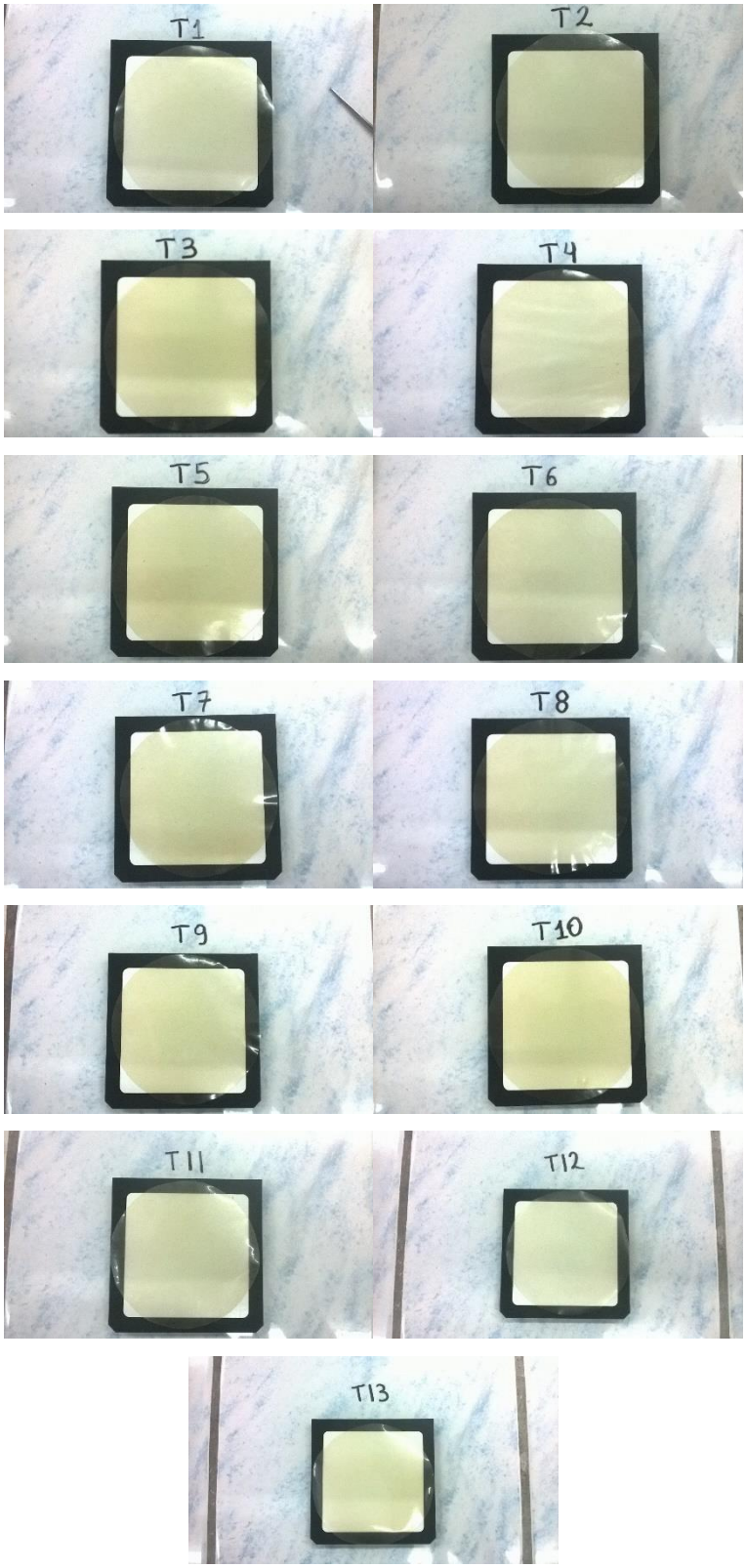

Foto 15. Películas obtenidas utilizando las condiciones experimentales descritas.

ANEXO C. Fotografías de la evaluación de las propiedades físicas de las películas

Foto 16. Equipos utilizados para determinar la permeabilidad al vapor de agua de las películas de APSI.

Foto 17. Micrómetro utilizado para la determinación del grosor de las películas de APSI.

Foto 18. Cromámetro utilizado para determinar el color de las películas de APSI.

ANEXO D. Curva Patrón de Proteína de Albúmina de Suero Bovino

Tabla 19. Concentración de Proteína vs Absorbancia

#	Concentración de Proteína mg/ml	Absorbancia 540 nm
1	1,0	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	0,168
7	7,0	0,152
8	8,0	0,196
9	9,2	0,220
10	10,1	0,241

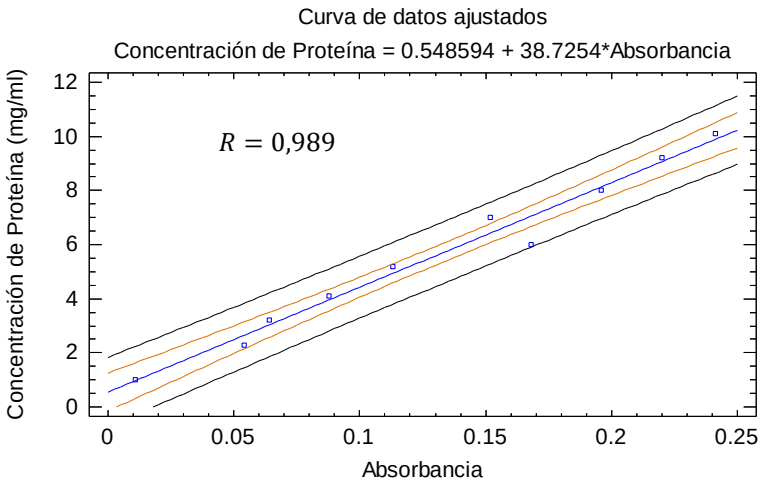

Figura 17. Curva patrón de proteína de albúmina de suero bovino. Elaboración propia.

ANEXO E. Análisis Estadístico del efecto del pH sobre el Rendimiento de Extracción de Proteína

Resumen estadístico para el rendimiento de extracción de proteína

Tabla 20. Resumen estadístico para el rendimiento de extracción de proteína.

pH	*Conteo*	$\bar{x}$	*s*	*C.V.*	*Mínimo*	*Máximo*	*Rango*	IC de 95%
9	3	30.79	1.84	5.96	28.96	32.63	3.67	(27,85 – 33,73)
10	3	38.44	2.74	7.14	36.49	41.57	5.08	(35,50 – 41,37)
11	3	60,43	2.55	4,23	57,48	61,94	4,45	(57,50 – 63,37)
12	3	72.20	1.43	1.99	71.19	73.84	2.65	(69,27 - 75,14)
Total	12	46.83	16.40	35.01	28.96	73.84	44.88	

Análisis de Varianza para el Rendimiento de Extracción de Proteína

Tabla 21. Análisis de Varianza para el Rendimiento de Extracción de Proteína.

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
pH	3310,98	98,84	3	1103,66	226,75	<0,0001
Residual	38,94	1,16	8	4,87		
Total (corr.)	3349,92	100	11			

Resumen del modelo

Tabla 22. Resumen del Modelo.

R-cuadrado	0,9884
R-cuadrado ajustado	0,9840
R-cuadrado de predicción	0,9738

Comparación de Medias con método de Tukey con 95% de nivel de confianza.

Tabla 23. Comparación de medias con método de Tukey.

pH	*Media*	*Intervalos HSD de Tukey*		*Grupos Homogéneos*			
		Límite inferior	*Límite superior*				
9	30.792	27.9088	33.6752	X			
10	38.4367	35.5534	41.3199		X		
11	60.4331	57.5499	63.3164			X	
12	72.2041	69.3209	75.0874				X

Tabla 24. Contrastes de Tukey.

Contraste pH	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
9 – 10	*	-7.64467	5.76646
9 – 11	*	-29.6411	5.76646
9 – 12	*	-41.4121	5.76646
10 –11	*	-21.9965	5.76646
10 – 12	*	-33.7675	5.76646
11 – 12	*	-11,771	5.76646

***** denota una diferencia significativa

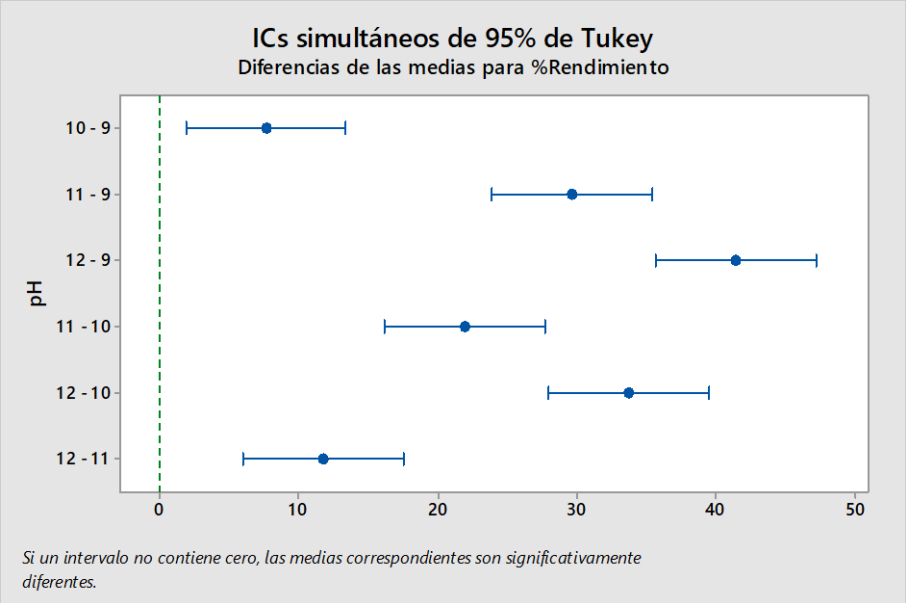

Figura 18. Intervalos de confianza de Tukey.

Prueba de igualdad de varianzas (Prueba de Levene)

Tabla 25. Prueba de Levene.

	Test	*P-Value*
Levene's	0.102026	0,956577

En esta tabla el estadístico mostrado prueba la hipótesis nula de que la varianza del rendimiento de extracción de proteína entre los 4 niveles de pH es el mismo. De particular interés es el valor-P. Debido a que el valor-P es más grande o igual que 0,05, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas a un 95% de nivel de confianza.

ANEXO F. Reporte de Resultados de Permeabilidad al Vapor de Agua de películas biodegradables comestibles de proteína de Sacha Inchi según Norma ASTM E96

Material ensayado: Películas comestibles y biodegradables de aislado proteico de Sacha Inchi y Sorbitol obtenidas de 9 tratamientos.

Tabla 26. Grosor promedio de películas ensayadas.

Tratamiento	Factores		Grosor Promedio (µm)
	% APSI	% Sor	
1	6 (-1)	1,85 (-1)	90,00
2	6 (-1)	3,3 (1)	108,75
3	9 (1)	1,85 (-1)	132,00
4	9 (-1)	3,3 (1)	138,25
5	7,5 (0)	2,575 (0)	136,50
6	7,5 (0)	2,575 (0)	101,50
7	7,5 (0)	2,575 (0)	116,00
8	7,5 (0)	2,575 (0)	114,50
9	7,5 (0)	2,575 (0)	124,50

Método de ensayo: Acuoso

Temperatura de ensayo: 23°C

Gradiente de Humedad relativa en la cámara de ensayo: 0%

Permeancia de los 9 tratamientos

Tabla 27. Valores de permeancia de películas ensayadas.

Tratamiento	Factores		Permeancia (perms)		
	% APSI	% Sor	R1	R2	Promedio
1	6 (-1)	1,85 (-1)	41,89	44,72	43,31
2	6 (-1)	3,3 (1)	47,28	47,02	47,15
3	9 (1)	1,85 (-1)	40,17	38,76	39,47
4	9 (-1)	3,3 (1)	42,40	42,55	42,48
5	7,5 (0)	2,575 (0)	36,91	41,16	39,04
6	7,5 (0)	2,575 (0)	49,92	46,15	48,04
7	7,5 (0)	2,575 (0)	36,43	37,06	36,75
8	7,5 (0)	2,575 (0)	46,94	46,69	46,82
9	7,5 (0)	2,575 (0)	41,07	41,08	41,08

Permeabilidad de los 9 tratamientos

Tabla 28. Valores de permeabilidad de películas ensayadas.

Tratamiento	Factores		Permeabilidad ($10^{-10}\ g\ m\ m^{-2}s^{-1}Pa^{-1}$)		
	% APSI	% Sor	R1	R2	Promedio
1	6 (-1)	1,85 (-1)	2,17	2,31	2,24
2	6 (-1)	3,3 (1)	2,96	2,94	2,95
3	9 (1)	1,85 (-1)	3,05	2,94	2,995
4	9 (-1)	3,3 (1)	3,37	3,38	3,375
5	7,5 (0)	2,575 (0)	2,90	3,23	3,065
6	7,5 (0)	2,575 (0)	2,91	2,69	2,80
7	7,5 (0)	2,575 (0)	2,43	2,47	2,45
8	7,5 (0)	2,575 (0)	3,09	3,07	3,08
9	7,5 (0)	2,575 (0)	2,94	2,94	2,94

Datos ajustados para el cálculo de la permeabilidad

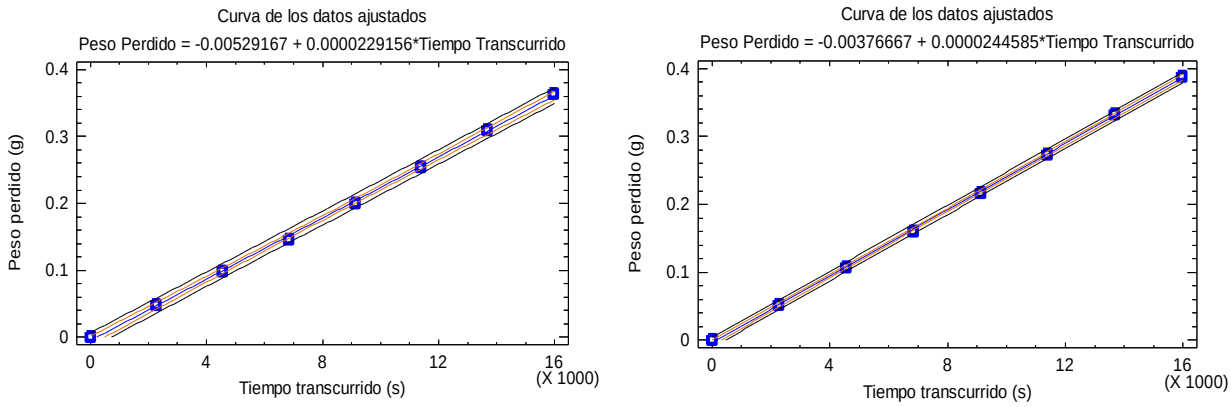

Figura 19. Curva de los datos ajustados del tratamiento 1.

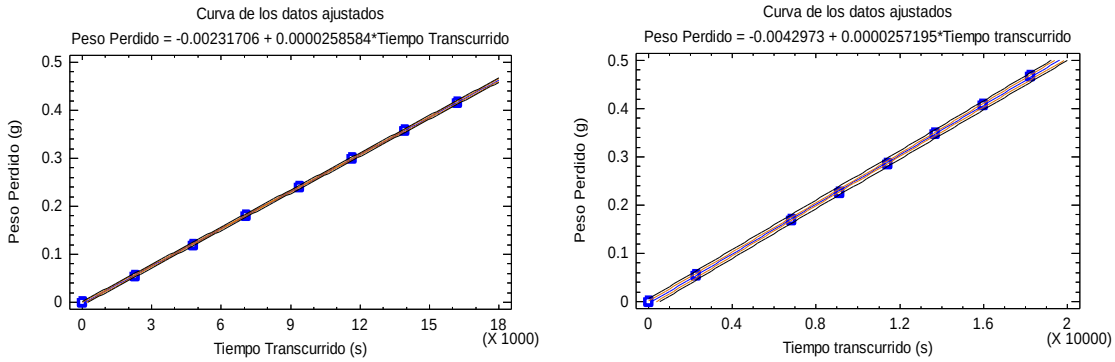

Figura 20. Curva de los datos ajustados del tratamiento 2.

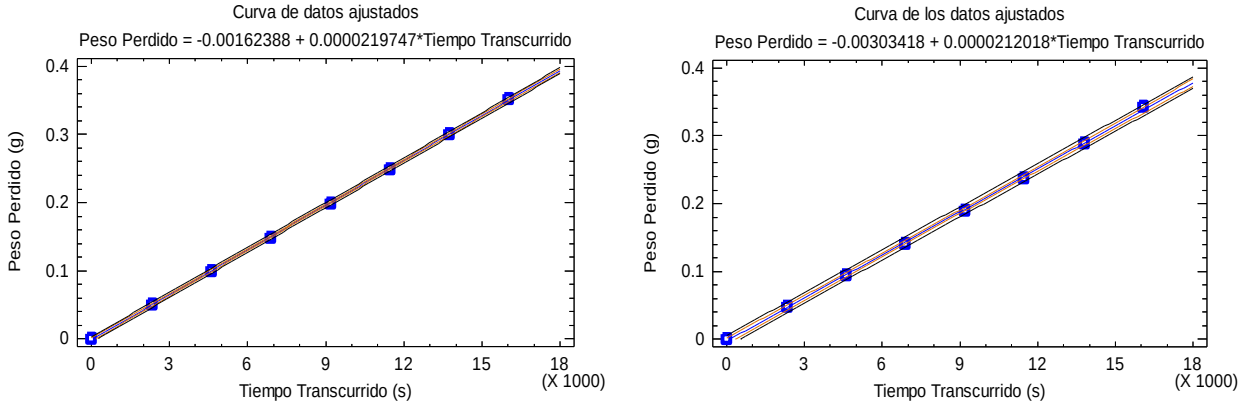

Figura 21. Curva de los datos de los ajustados del tratamiento 3.

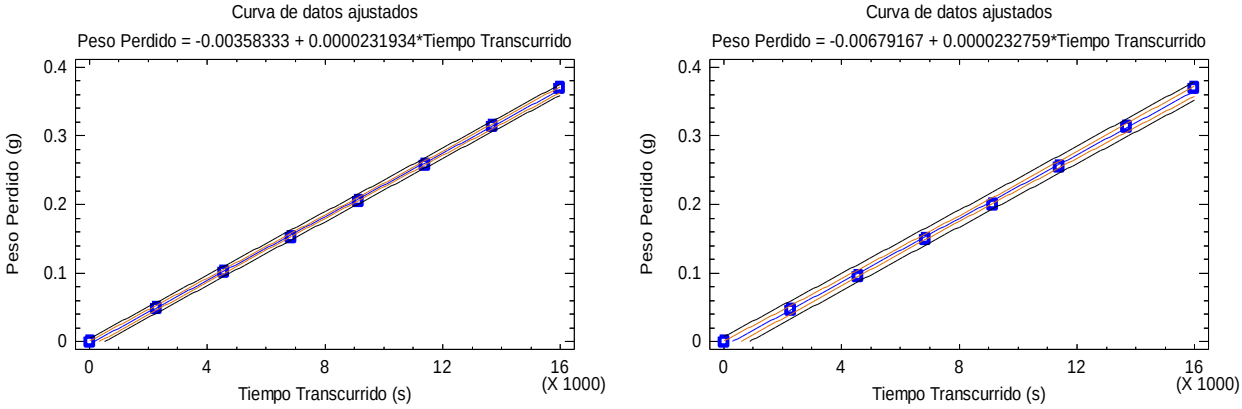

Figura 22. Curva de los datos ajustados del tratamiento 4.

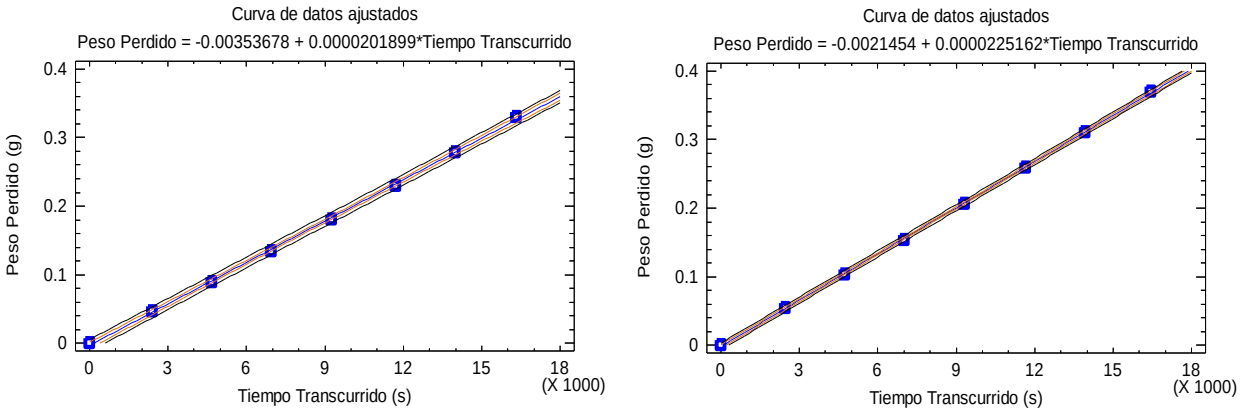

Figura 23. Curva de los datos ajustados del tratamiento 5.

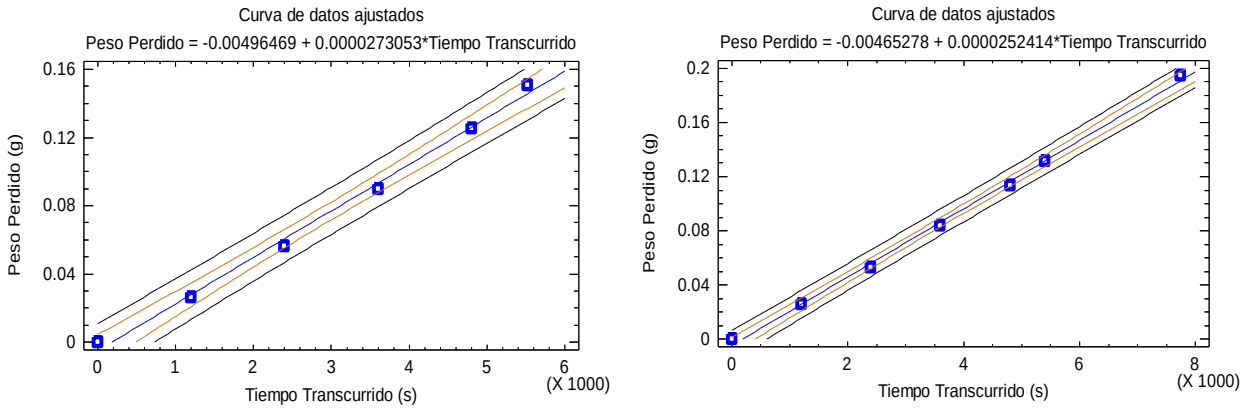

Figura 24. Curva de los datos ajustados del tratamiento 6.

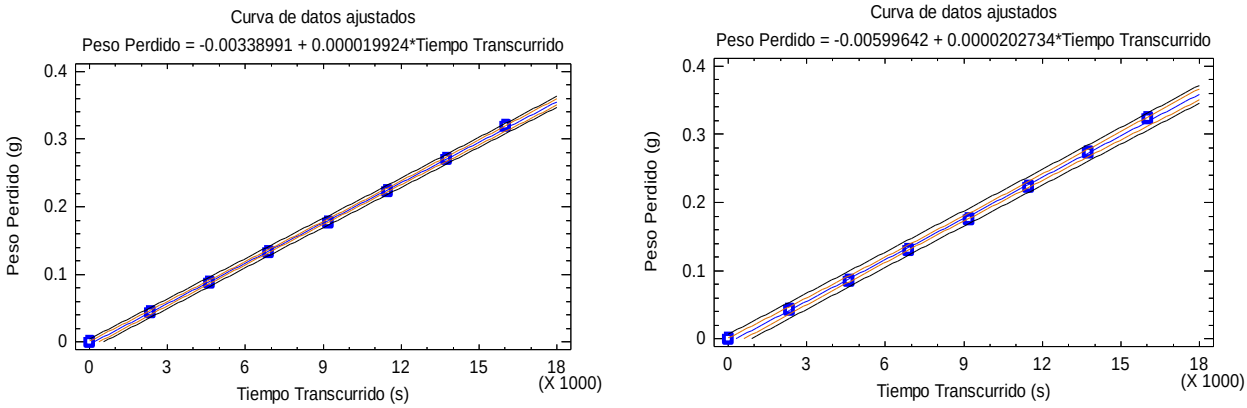

Figura 25. Curva de los datos ajustados del tratamiento 7.

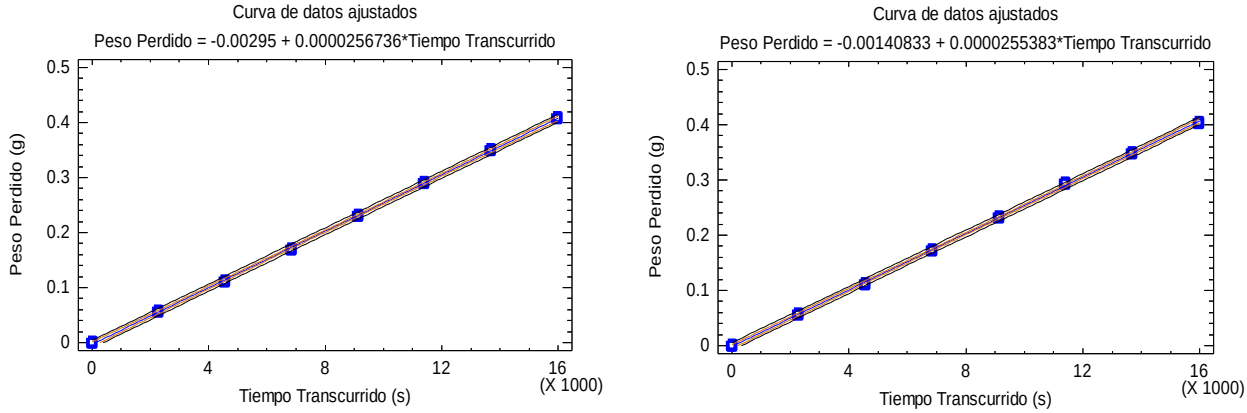

Figura 26. Curva de los datos ajustados del tratamiento 8.

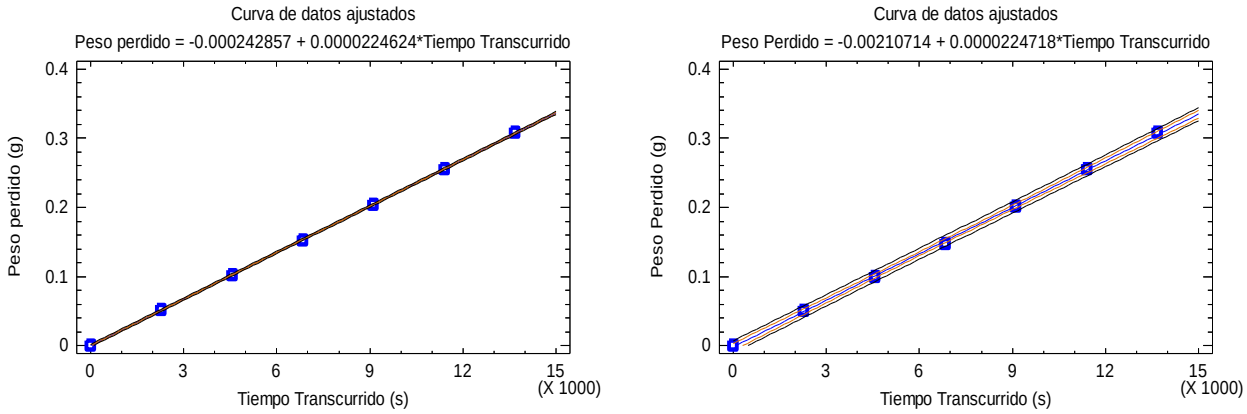

Figura 27. Curva de los datos ajustados del tratamiento 9.

Diseño del vapómetro

Los vapómetros utilizados para medir la permeabilidad al vapor de agua fueron de la marca Thwing Albert serie EZ-Cups 68-3000 modelo 68-3002 (**Figura 28**). Cada vapómetro consiste de una taza de aluminio de peso ligero, una brida

roscada, dos juntas de neopreno y un sello de teflón que mantiene la muestra en su lugar.

Este diseño elimina las fugas por los bordes y provee un sellado rápido y seguro de la muestra entre las juntas.

Características

- Cumple con norma ASTM E96 & ISO 12572
- Sello mecánico
- Grosor de las muestras de ensayo hasta 3 mm.
- Diámetro: 63,5 mm
- Profundidad: 50,8 mm
- Peso: 153,4 g

Figura 28. Vapómetro empleado en el ensayo de determinación de permeabilidad al vapor de agua.

Ensamblaje

Figura 29. Ensamblaje del vapómetro para la medición de la permeabilidad al vapor de agua.

ANEXO G. Análisis de Varianza de las variables respuesta

Análisis de Varianza de la variable solubilidad (%)

Tabla 29. Análisis de varianza de la variable solubilidad (%).

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	1421,57	90,95	5	284,31	66,29	< 0,0001
Lineal	1219,65	78,03	2	609,824	142,18	< 0,0001
A:% APSI	399,09	25,53	1	399,09	93,05	< 0,0001
B:% Sor	820,56	52,50	1	820,56	191,31	< 0,0001
Cuadrado	194,79	12,46	2	97,396	22,71	0,0001
A^2	145,04	7,77	1	145,04	33,82	< 0,0001
B^2	73,34	4,69	1	73,34	17,10	0,0002
Interacción	7,13	0,46	1	7,13	1,66	0,2062
AB	7,13	0,46	1	7,13	1,66	0,2062
Residual	141,54	9,05	33	4,29		
Falta de Ajuste	10,78	0,69	3	3,59	0,82	0,4910
Error puro	130,76	8,37	30	4,36		
Total (corr.)	1563,11	100,00	38			

Estadísticos importantes

Tabla 30. Estadísticos importantes de la variable solubilidad (%).

Desviación Estándar	2,07	**R-cuadrado**	0,9095
Media	40,69	**R-cuadrado ajustado**	0,8957
C.V%	5,09	**R-cuadrado de predicción**	0,8878

Análisis de Varianza de la variable Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA).

Tabla 31. Análisis de varianza de la variable PVA.

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	1,35	67,94	3	0,45	9,89	0,001
Lineal	1,29	65,27	2	0,65	14,25	<0,0001
A:% APSI	0,70	35,36	1	0,70	15,44	0,002
B:% Sor	0,59	29,91	1	0,59	13,06	0,003
Interacción	0,05	2,67	1	0,05	1,17	0,298
AB	0,05	2,67	1	0,05	1,17	0,298
Residual	0,635	32,06	14	0,045		
Falta de Ajuste	0,002	0,11	1	0,002	0,05	0,835
Error puro	0,633	31,95	13	0,049		
Total (corr.)	1,985	100,00	17			

Estadísticos importantes

Tabla 32. Estadísticos importantes de la variable PVA.

Desviación Estándar	0,21	**R-cuadrado**	0,6794
Media	2,88	**R-cuadrado ajustado**	0,6107
C.V%	7,40	**R-cuadrado de predicción**	0,6230

Análisis de varianza de diferencia de color (∆E*)

Tabla 33. Análisis de varianza de diferencia de color (ΔE*).

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	42,66	86,97	5	8,53	9,34	0,0053
Lineal	26,99	55,02	2	13,49	34,68	0,003
A:% APSI	13,10	26,70	1	13,10	14,34	0,0068
B:% Sor	13,89	28,32	1	13,89	15,21	0,0059
Cuadrado	15,54	31,69	2	7,77	19,88	0,013
A^2	4,34	12,75	1	4,34	4,75	0,0657
B^2	9,29	18,94	1	9,29	10,17	0,0153
Interacción	0,13	0,26	1	0,13	0,02	0,7175
AB	0,13	0,26	1	0,13	0,14	0,7175
Residual	6,39	13,03	7	0,91		
Falta de Ajuste	1,55	3,15	3	0,52	0,43	0,7455
Error puro	4,84	9,88	4	1,21		
Total (corr.)	49,05	100,00	12			

Estadísticos importantes

Tabla 34. Estadísticos importantes de la variable ΔE*.

Desviación Estándar	0,96	**R-cuadrado**	0,8697
Media	13,37	**R-cuadrado ajustado**	0,7766
C.V%	7,15	**R-cuadrado de predicción**	0,6213

Análisis de Varianza de Claridad (L*)

Tabla 35. Análisis de Varianza de la variable Claridad (L*).

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	17,25	74,54	5	3,45	4,10	0,0465
Lineal	5,4	23,31	2	2,7	3,20	0,1030
A:% APSI	2,97	12,82	1	2,97	3,53	0,1025
B:% Sor	2,43	10,49	1	2,43	2,88	0,1333
Cuadrado	11,83	51,13	2	5,92	7,03	0,021
A^2	3,65	22,20	1	3,65	4,33	0,0759
B^2	6,69	28,93	1	6,69	7,95	0,0258
Interacción	0,023	0,10	1	0,023	0,027	0,8747
AB	0,023	0,10	1	0,023	0,027	0,8747
Residual	5,89	25,46	7	0,84		
Falta de Ajuste	1,56	6,75	3	0,52	0,48	0,7130
Error puro	4,33	18,71	4	1,08		
Total (corr.)	23,14	100,00	12			

Estadísticos importantes

Tabla 36. Estadísticos importantes de la variable L*.

Desviación Estándar	0,92	**R-cuadrado**	0,7454
Media	89,94	**R-cuadrado ajustado**	0,5635
C.V%	1,02	**R-cuadrado de predicción**	0,2277

Análisis de Ajuste de la variable a*

Tabla 37. Análisis de ajuste de la variable a*.

Modelo	**P-Valor secuencial**	**Falta de Ajuste P-Valor**	**R^2**	**R^2 ajustado**	**R^2 Predicción**
Media	0,0271				
Lineal	0,7221	0,0519	0,0630	-0,1244	-0,9498
Interacción	0,3861	0,0462	0,1421	-0,1438	-1,9545
Cuadrático	0,3090	0,0411	0,3867	-0,0514	-2,8437
Cúbico	0,9611	0,0095	0,3963	-0,4418	-31,8096

Análisis de Varianza de la variable b*

Tabla 38. Análisis de varianza de la variable b*.

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	28,13	93,24	5	5,63	19,31	0,0006
Lineal	22,32	73,99	2	11,16	38,30	0,0001
A:% APSI	10,35	34,32	1	10,35	35,54	0,0006
B:% Sor	11,97	39,66	1	11,97	41,07	0,0004
Cuadrado	5,70	18,88	2	2,85	9,77	0,009
A^2	1,42	6,97	1	1,42	4,86	0,0632
B^2	3,59	11,91	1	3,59	12,33	0,0098
Interacción	0,11	0,37	1	0,11	0,39	0,5545
AB	0,11	0,37	1	0,11	0,39	0,5545
Residual	2,04	6,76	7	0,29		
Falta de Ajuste	0,44	1,46	3	0,15	0,37	0,7824
Error puro	1,60	5,30	4	0,40		
Total (corr.)	30,17	100,00	12			

Estadísticos importantes

Tabla 39. Estadísticos importantes de la variable b*.

Desviación Estándar	0,54	**R-cuadrado**	0,9324
Media	12,75	**R-cuadrado ajustado**	0,8841
C.V%	4,23	**R-cuadrado de predicción**	0,8136

Análisis de Varianza de la variable contenido de humedad.

Tabla 40. Análisis de varianza de la variable contenido de humedad.

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	44,15	35,51	5	8,83	3,63	0,01
Lineal	1,95	1,57	2	0,98	0,40	0,673
A:% APSI	0,33	0,26	1	0,33	0,13	0,716
B:% Sor	1,62	1,30	1	1,62	0,67	0,420
Cuadrado	40,95	32,93	2	20,48	8,43	0,001
A^2	33,53	23,33	1	33,53	13,80	0,001
B^2	11,94	9,61	1	11,94	4,92	0,034
Interacción	1,25	1,00	1	1,25	0,51	0,478
AB	1,25	1,00	1	1,25	0,51	0,478
Residual	88,20	64,49	33	2,43		
Falta de Ajuste	55,07	44,29	3	18,36	21,92	< 0,0001
Error puro	25,13	20,21	30	0,84		
Total (corr.)	124,35	100,00	38			

Estadísticos importantes

Tabla 41. Estadísticos importantes de la variable contenido humedad.

Desviación Estándar	1,56	**R-cuadrado**	0,3551
Media	9,23	**R-cuadrado ajustado**	0,2574
C.V%	16,89	**R-cuadrado de predicción**	0,0020

Análisis de Varianza de la variable grosor

Tabla 42. Análisis de varianza de la variable grosor.

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*% Contribución*	*g.L*	*Cuadrado Medio*	*F-Ratio*	*P-Value*
Modelo	5893.50	62.99%	3	1964.50	18.16	<0,0001
Lineal	5737.25	61.32%	2	2868.63	26,51	<0,0001
A:% APSI	5112.25	54.64%	1	5112.25	47,25	<0,0001
B:% Sor	625.00	6.68%	1	625.00	5,78	0,022
Interacción	156.25	1.67%	1	156.25	1,44	0,238
AB	156.25	1.67%	1	156.25	1,44	0,238
Residual	3462.50	37.01%	32	108.20		
Falta de Ajuste	16.20	0,17%	1	16.20	0,15	0,705
Error puro	3446.30	36,84%	31	111.17		
Total (corr.)	9356.00	100,00%	35			

Estadísticos importantes

Tabla 43. Estadísticos importantes de la variable grosor.

Desviación Estándar	10,40	**R-cuadrado**	0,6299
Media	118,00	**R-cuadrado ajustado**	0,5952
C.V%	8,82	**R-cuadrado de predicción**	0,5864

ANEXO H: Gráficas de efectos principales

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre ΔE*.

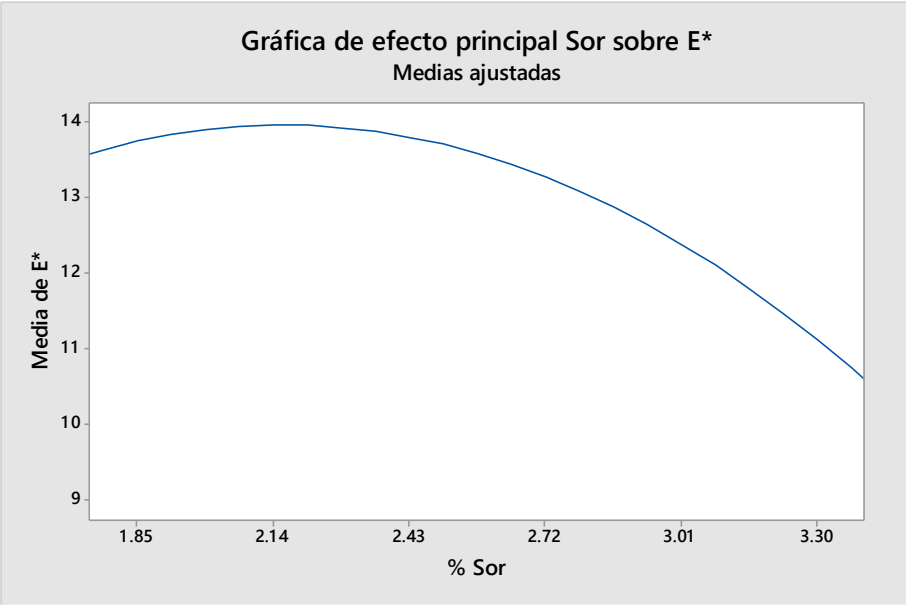

Figura 30. Gráfica del efecto principal Sor sobre la diferencia de color (ΔE*).

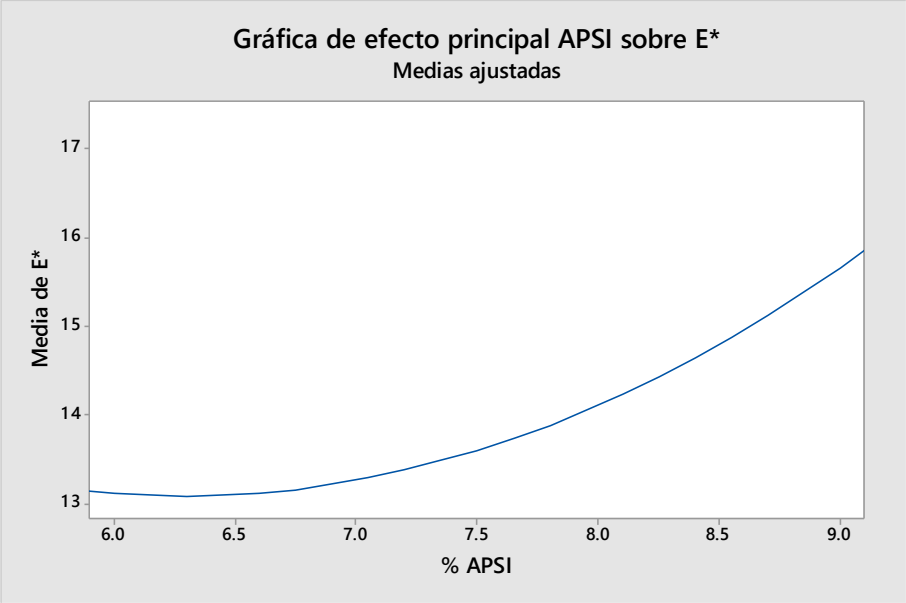

Figura 31. Gráfica de efecto principal APSI sobre la diferencia de color (ΔE*).

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre L*.

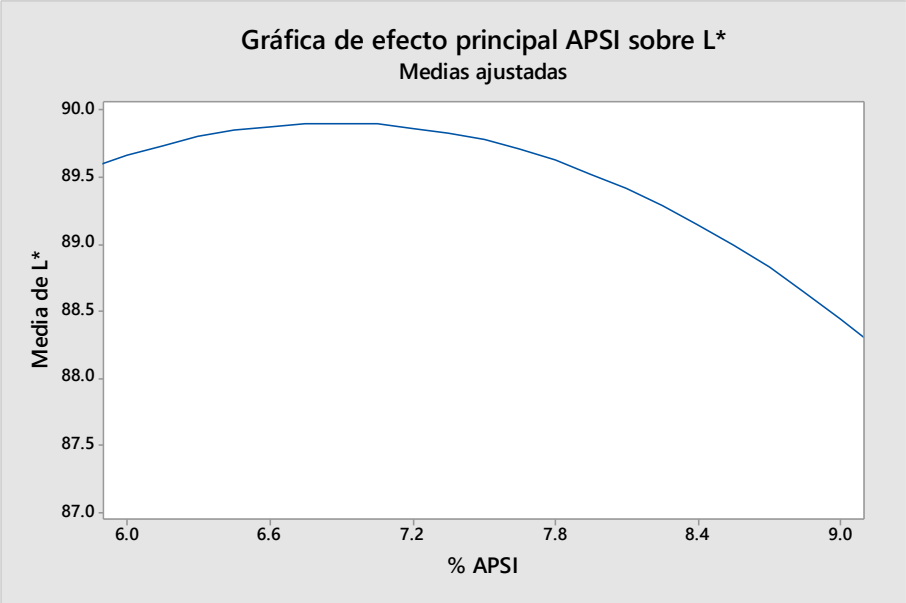

Figura 32. Gráfica de efecto principal APSI sobre la claridad (L*) de las películas.

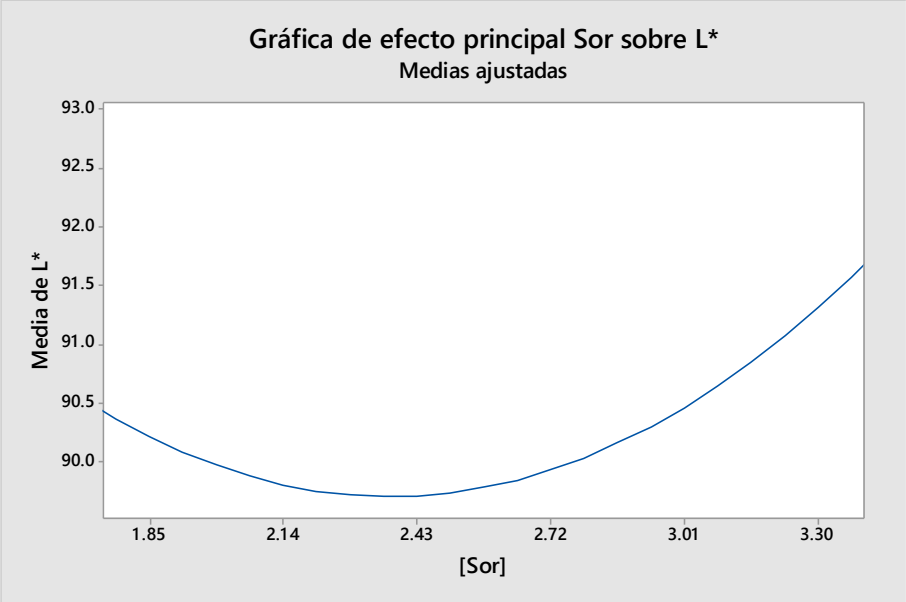

Figura 33. Gráfica de efecto principal Sor sobre la claridad (L*) de las películas.

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre ΔE*.

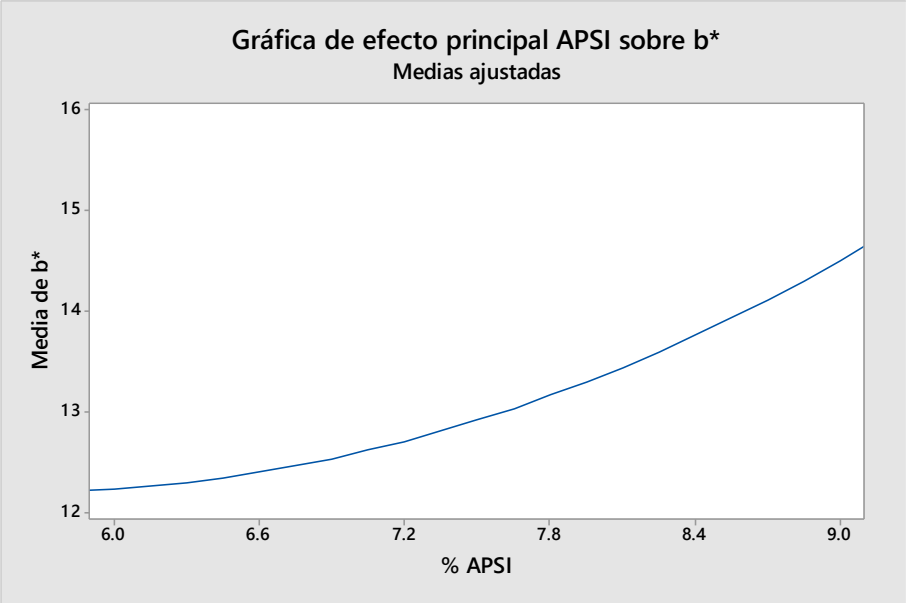

Figura 34. Gráfica de efecto principal APSI sobre b* de las películas.

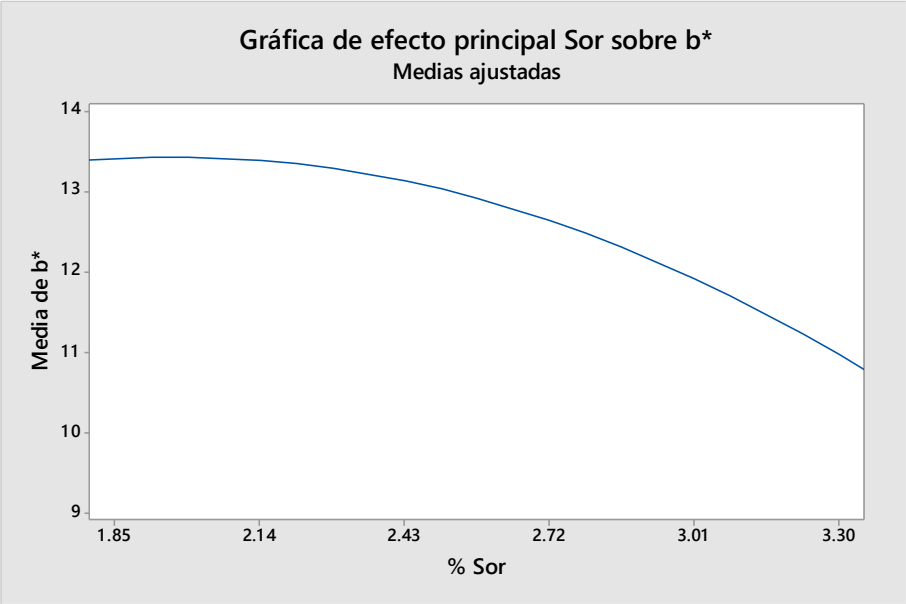

Figura 35. Gráfica de efecto principal Sor sobre b* de las películas.

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre % Solubilidad (g/100 g de materia seca)

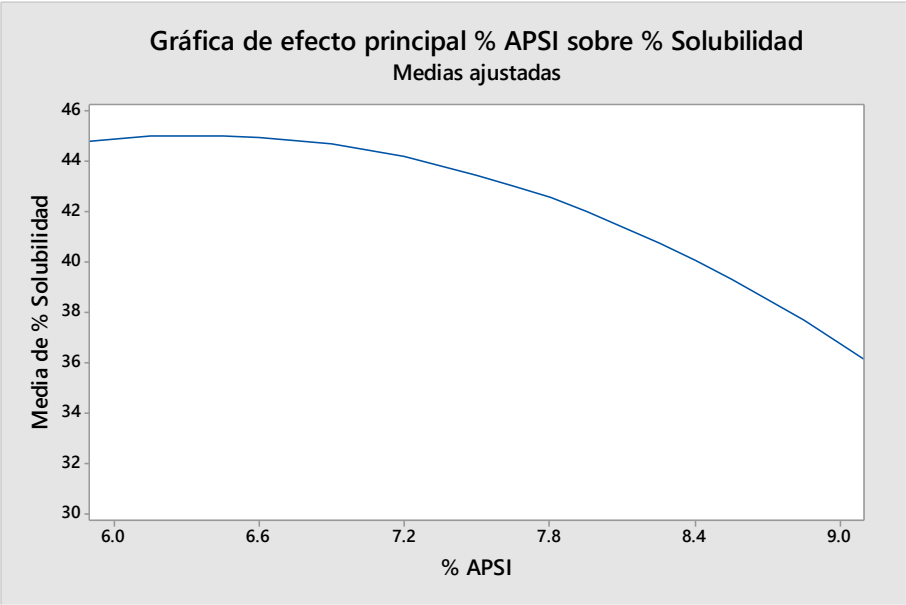

Figura 36. Gráfica de efecto principal % APSI sobre el % Solubilidad.

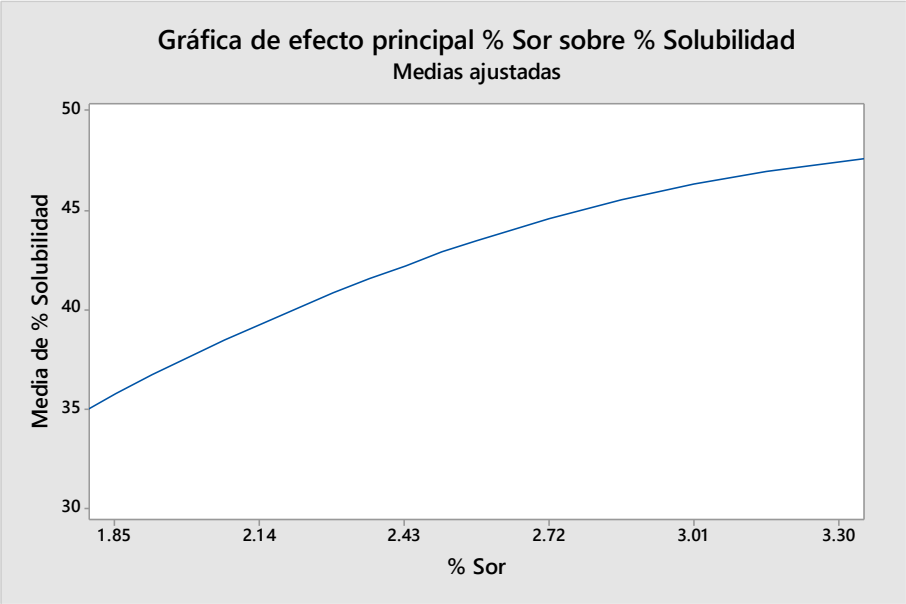

Figura 37. Gráfica de efecto principal % Sor sobre el % Solubilidad.

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre PVA (10^{-10} $gm^{-1}s^{-1}$ Pa^{-1})

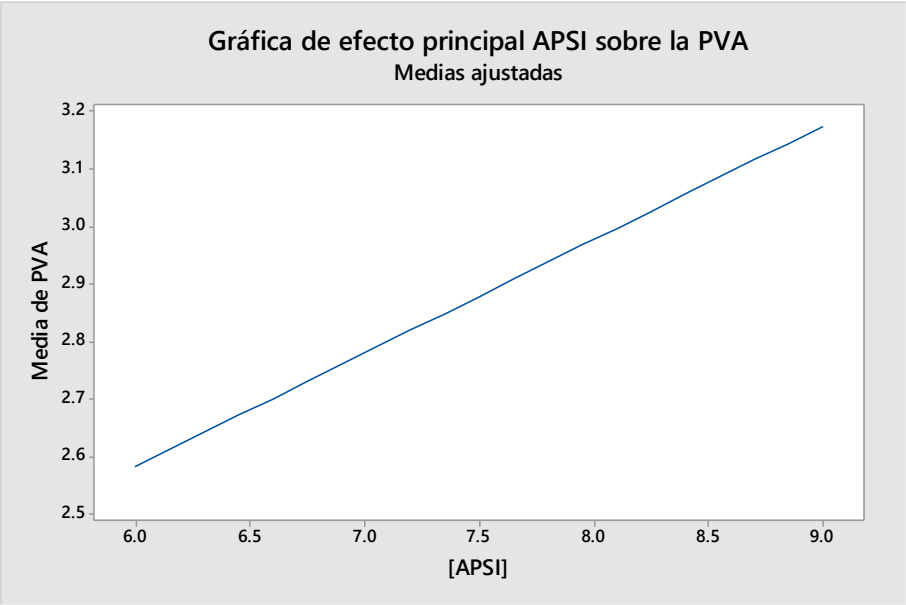

Figura 38. Gráfica de efecto principal APSI sobre la PVA de las películas.

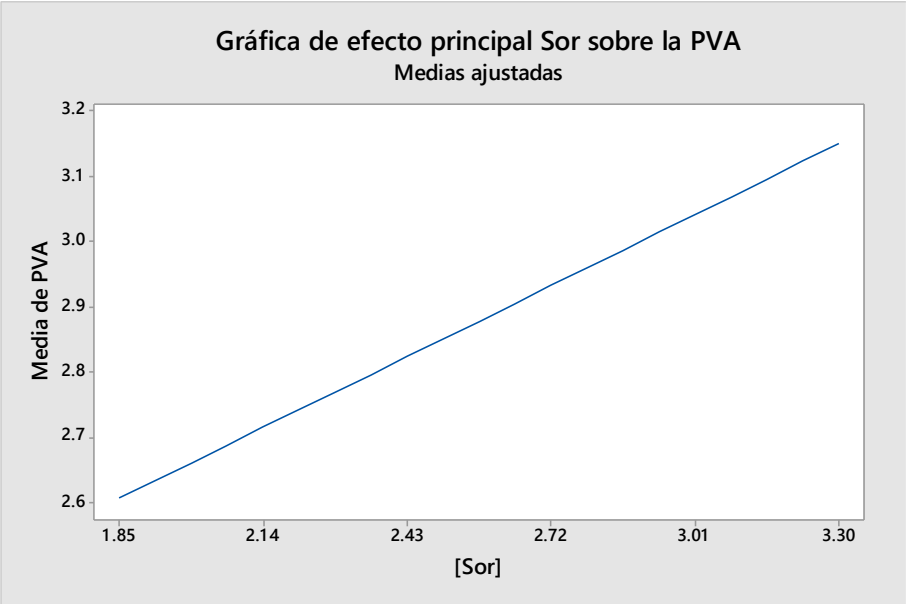

Figura 39. Gráfica de efecto principal Sor sobre la PVA de las películas.

Efectos principales (Concentración de APSI y Sor) sobre grosor (µm)

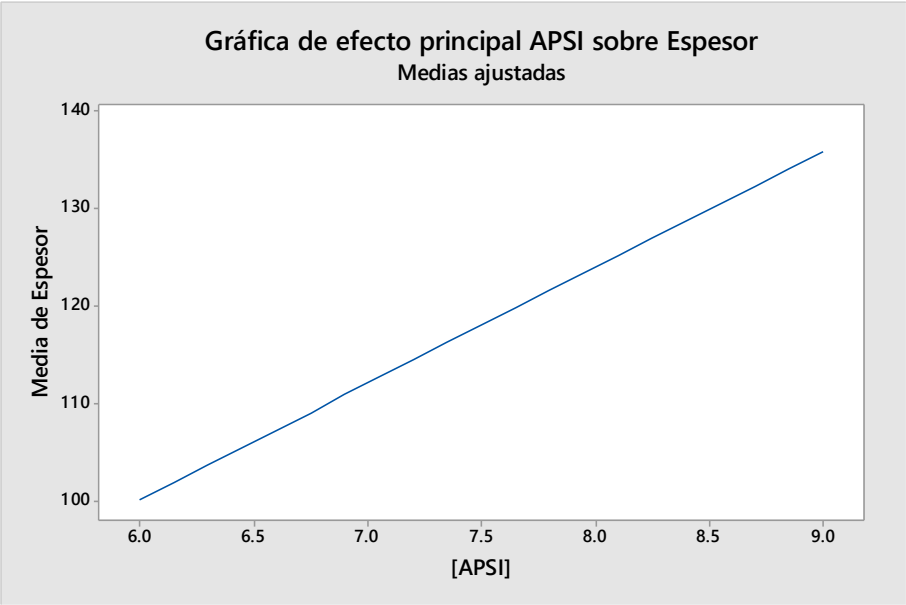

Figura 40. Gráfica de efecto principal APSI sobre el grosor de películas.

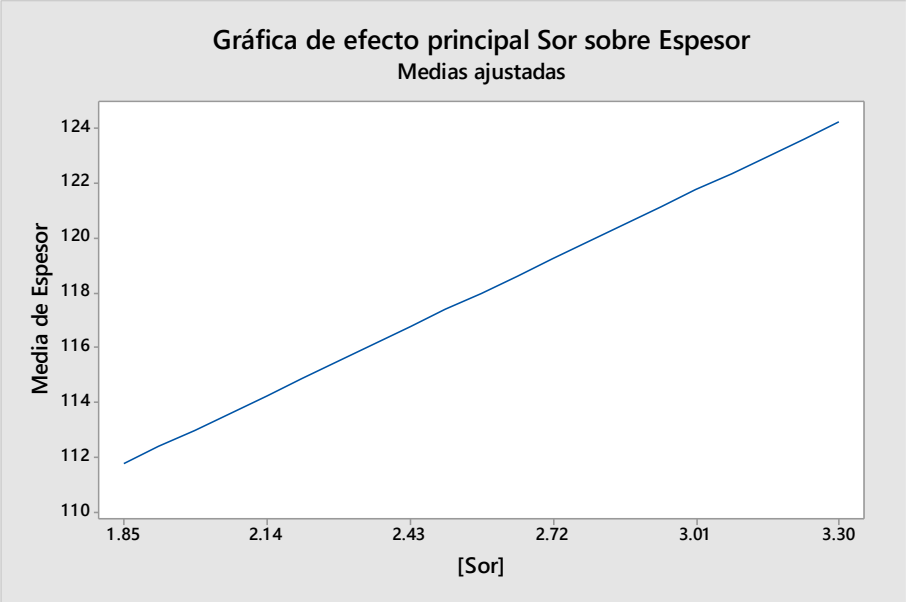

Figura 41. Gráfica de efecto principal Sor sobre el grosor de películas.