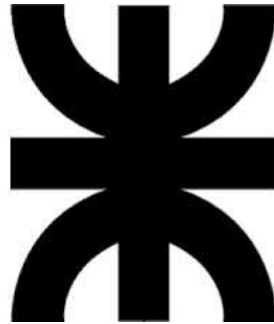


UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL
FACULTAD REGIONAL ROSARIO



**TESIS DE
MAESTRÍA EN
INGENIERÍA DE
CALIDAD**

**“MODELADO MATEMÁTICO DEL PROCESO DE
PRODUCCIÓN DE CONCENTRADOS PROTEICOS
DE SOJA”**

Tesista: Ing. Cecilia Accoroni

Directora: Dra. M. Agustina Reinheimer

Co-directora: Lic. M. Cristina López de Ogara

Fecha presentación: Febrero 2015 | INTA

DEDICATORIA

*El presente trabajo de investigación está dedicado a mi familia,
en especial a mi sobrino Lorenzo, y a todos aquellos que con
su apoyo me alentaron en el desarrollo de esta Tesis.*

AGRADECIMIENTOS

En estas líneas quiero agradecer a todas aquellas personas e instituciones que incondicionalmente me dedicaron su conocimiento, su tiempo y su confianza para que pueda llevar adelante este trabajo que representa un desafío.

Agradecimientos:

- A mi jefe y director de beca en INTA Ing. José María Mendez por haberme guiado en esta etapa, confiar en mí y brindarme su apoyo incondicional.
- A mi directora Dra. M. Agustina Reinheimer por su inestimable apoyo, tiempo y esfuerzo.
- A mi co-directora Lic. M. Cristina López de Ogara por haberme ofrecido su experiencia y apoyo para realizar la etapa experimental.
- Al INTI Agroalimentos por haberme permitido realizar la parte experimental de mi tesis en sus instalaciones.
- A la Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Rosario y CAIMI, por haberme facilitado la experiencia y programas para el análisis de datos del modelado matemático.
- Al mis compañeros de INTA por brindarme información y apoyo siempre que lo necesite.
- A mi querida amiga M. Noelia Pettinari por haberme abierto las puertas de su casa y recibirme cada vez que viaje a realizar mis ensayos experimentales.
- A mi familia y amigos por su incentivo permanente, entender mis ausencias y respetar mis silencios.

INDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 GENERALIDADES.....	3
1.3 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE SOJA.....	4
1.4 ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS DE SOJA.....	7
1.5 PRINCIPALES USOS DE LA SOJA.....	9
1.5.1 Principales productos proteicos de soja.....	11
1.6 SITUACIÓN DE LA INDUSTRIALIZACIÓN DE SOJA EN ARGENTINA.....	14
1.6.1 Panorama general.....	14
1.6.2 Producción de soja.....	16
1.6.3 Procesamiento de soja.....	17
1.7 PLANTEO DE LA PROBLEMÁTICA.....	21
2. CAPÍTULO II: PRODUCTOS PROTEICOS DE SOJA: CONCENTRADOS Y AISLADOS	
2.1 DEFINICIÓN DE PRODUCTOS PROEICOS DE SOJA.....	22
2.1.1 Concentrados proteicos de soja.....	24
2.1.2 Aislados proteicos de soja.....	24
2.2 PRINCIPALES USOS Y APLICACIONES DE LOS CONCENTRADOS Y AISLADOS PROTEICOS DE SOJA.....	25
2.2.1 Tipos de aplicaciones.....	26
3. CAPÍTULO III: PROCESOS DE OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE SOJA	
3.1 INTRODUCCIÓN.....	28
3.1.1 Panorama mundial del desarrollo tecnológico para concentrados y aislados proteicos de soja.....	29
3.2 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS PARA OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE SOJA.....	37
3.2.1 Extracción con alcohol acuoso.....	38
3.2.2 Lixiviación ácida y precipitación isoelectrica.....	38

3.2.3	Lixiviación con vapor y lavado con agua caliente.....	39
3.3	DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS PARA OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE SOJA.....	39
3.3.1	Método convencional.....	39
3.3.2	Métodos alternativos.....	40
3.4	COMPARACIÓN ENTRE PROCESOS.....	42
4.	CAPÍTULO IV: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	
4.1	INTRODUCCIÓN.....	45
4.1.1	Hipótesis de trabajo.....	45
4.1.2	Descripción de los fenómenos de transporte del proceso.....	46
4.2	CONSIDERACIONES PREVIAS AL DISEÑO DE EXPERIMENTO.....	47
4.2.1	Materia Prima.....	47
4.2.2	Elección del tipo de diseño de experimento.....	50
4.3	DIAGRAMA DE BLOQUE DEL PROCESO.....	53
4.4	METODOLOGÍA UTILIZADA.....	54
4.5	DETERMINACIONES ANALITICAS.....	61
4.6	RESPUESTAS A EVALUAR: COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTOS.....	63
5.	CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1	RESULTADOS DEL ENSAYO.....	66
5.1.1	Contenido de proteínas del producto final.....	67
5.1.2	Contenido de humedad del producto proteico final.....	69
5.1.3	Contenido de lípidos del producto proteico final.....	71
5.1.4	Rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoelectrica....	73
5.1.5	Rendimiento de proteínas en el proceso general.....	75
5.1.6	Rendimiento de sólidos totales en el proceso general.....	78
5.1.7	Rendimiento de proteínas vs sólidos.....	79
5.1.8	Optimización simultánea.....	82
5.2	BALANCE DE MASA DEL PROCESO.....	84
5.3	COMPOSICIÓN DEL PRODUCTO PROTEICO OBTENIDO.....	87

6. CONCLUSIONES.....	88
7. BIBLIOGRAFÍA.....	91

TABLA DE GRÁFICOS

Figura 1.1. Estructura de una semilla de soja.....	5
Figura 1.2. Usos de la soja.....	10
Figura 1.3. Superficie de soja sembrada en Argentina.....	16
Figura 3.1. Solicitudes de patentes para concentrados y aislados de proteínas de soja en los principales países tecnológicos.....	30
Figura 3.2. Principales empresas solicitantes de patentes vs. Cantidad de solicitudes para concentrados y aislados de proteínas de soja.....	31
Figura 3.3. Evolución temporal de las principales empresas solicitantes de patentes tecnológicas para concentrados de proteínas de soja.....	31
Figura 3.4. Evolución temporal de las principales empresas solicitantes de patentes tecnológicas para aislados de proteínas de soja.....	32
Figura 3.5. Tendencia anual de solicitudes de patentes para concentrados y aislados de proteínas de soja.....	32
Figura 3.6. Principales CIP a nivel mundial para el patentamiento de concentrados y aislados de proteínas de soja.....	34
Figura 3.7. Principales CIP para el patentamiento de productos y procesos relacionados a concentrados de proteínas de soja.....	35
Figura 3.8. Principales CIP para el patentamiento de productos y procesos relacionados a aislados de proteínas de soja.....	36
Figura 4.1 Representación del diseño de Box-Behnken.....	52
Figura 4.2 Diagrama de flujo del proceso desarrollado.....	54
Figura 4.3. Equipos utilizados durante la experiencia de laboratorio.....	55

Figura 4.4. Diagrama de flujo de las etapas del proceso.....	59
Figura 4.5. Productos obtenidos a lo largo del proceso.....	60
Figura 5.1. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de proteínas.....	68
Figura 5.2 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de proteínas.....	68
Figura 5.3. Superficies de respuesta de proteínas.....	68
Figura 5.4. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el contenido de proteínas.....	69
Figura 5.5. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de Humedad.....	70
Figura 5.6. Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de humedad.....	70
Figura 5.7. Superficies de respuesta de contenido de humedad.....	70
Figura 5.8. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el contenido de humedad.....	70
Figura 5.9. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de lípidos.....	72
Figura 5.10. Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de lípidos.....	72
Figura 5.11. Superficies de respuesta de contenido de lípidos.....	72
Figura 5.12. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el contenido de lípidos.....	72
Figura 5.13. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de proteínas en la precipitación isoeléctrica.....	73

Figura 5.14 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento de proteínas en la precipitación isoeléctrica.....	73
Figura 5.15. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas en la precipitación isoeléctrica.....	74
Figura 5.16. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoeléctrica.....	74
Figura 5.17. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoeléctrica bajo la condición de target.....	75
Figura 5.18. Diagrama de Pareto estandarizado para rendimiento general de proteína....	76
Figura 5.19 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento general de proteínas.....	77
Figura 5.20. Superficies de respuesta del rendimiento general de proteínas.....	77
Figura 5.21. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de proteínas.....	77
Figura 5.22. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento general de sólidos...78	
Figura 5.23. Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento general de sólidos.....	78
Figura 5.24. Superficies de respuesta del rendimiento general de sólidos.....	79
Figura 5.25. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de sólidos.....	79
Figura 5.26. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de proteínas vs sólidos totales.....	80

Figura 5.27 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento de proteínas vs sólidos totales.....	80
Figura 5.28. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas vs sólidos totales.....	81
Figura 5.29. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de sólidos vs rendimiento general de proteínas.....	81
Figura 5.30. Valores óptimos, deseabilidades y principales efectos.....	84

INDICE TABLAS

Tabla 1.1. Composición media de las diferentes partes de la semilla o grano de soja.....	6
Tabla 1.2. Proporciones y características de las fracciones proteicas hidrosolubles del grano de soja.....	9
Tabla 1.3. Exportaciones argentinas de soja y sus derivados para el año 2012.....	20
Tabla 2.1. Composición de la Harina de Soja.....	23
Tabla 3.1 Nombre y descripción de los productos de soja para uso alimenticio de la Clasificación Internacional de Patentes.....	33
Tabla 3.2. Comparación de productos secados por spray y rendimientos de sus muestras a partir de procesos de precipitación isoelectrica, ultrafiltración y gel hinchado.....	44
Tabla 4.1. Composición nutricional del expeller de soja.....	49
Tabla 4.2. Parámetros de calidad de harina de soja definidos en el artículo 1407 del Código Alimentario Argentino.....	49
Tabla 4.3. Condiciones de la etapa de extracción.....	50
Tabla 4.4. Factores y niveles considerados en el diseño.....	51
Tabla 4.5 Matriz del Diseño de Box-Behnken para tres factores.....	52
Tabla 4.6. Ensayos del diseño de experimento.....	53
Tabla 5.1. Optimización de la superficie de respuesta de contenido proteico.....	67
Tabla 5.2. Optimización de la superficie de respuesta del contenido de humedad.....	69
Tabla 5.3. Optimización de la superficie de respuesta del contenido lipídico.....	71
Tabla 5.4. Optimización de la superficie de respuesta del rendimiento de proteínas en la precipitación isoelectrica.....	73

Tabla 5.5. Optimización de la superficie de respuesta del rendimiento general de proteínas.....	75
Tabla 5.6. Comparación de respuestas.....	76
Tabla 5.7. Optimización de superficie de respuesta del rendimiento general de sólido.....	78
Tabla 5.8. Optimización de las superficies de respuesta de la comparación de rendimiento general de proteínas vs sólidos.....	80
Tabla 5.9. Valores de respuesta óptimas y deseabilidad.....	82
Tabla 5.10. Condiciones de operación óptimas en Statgraphics.....	83
Tabla 5.11. Comparación de fracciones proteicas entre balances de masa de proceso variando la relación sólido:líquido, utilizando T 50°C, tiempo 45 min y pH 4,5.....	86
Tabla 5.12. Composición final del producto proteico de soja obtenido y composición establecida por CAA y FAO.....	87

PROLOGO

El desarrollo de este trabajo surge como respuesta a la demanda actual de nuestra región de agregar valor en origen al subproducto derivado de la extracción de aceite por el método de Extrusado y prensado; el expeller. Para cumplir este objetivo, se planteó desarrollar una metodología optimizada de producción de productos proteicos, de bajo costo y con posibilidad de llevar a escala. Además, que alcance el máximo rendimiento y que los productos obtenidos cumplan con las exigencias de calidad establecidas tanto por la legislación como el mercado.

El principal desafío planteado fue definir la metodología adecuada para la producción de productos proteicos de soja a partir de dicho subproducto, dado que hasta el momento no se ha publicado ninguna experiencia similar. Como resultado del estado del arte, se ha concluido que toda la experiencia conocida y desarrollada responde a la producción de productos proteicos a partir de harinas y flakes de soja, subproductos obtenidos de la extracción de aceite por solvente. Por ende, del material reclutado, se seleccionó el método tradicional de producción de aislados proteicos a partir de harinas, que propone una extracción alcalina de proteínas seguida de precipitación isoeléctrica.

Durante el desarrollo experimental, se ha considerado replicar las condiciones óptimas de operación de la etapa de extracción propuestas por la bibliografía y se ha realizado un diseño de experimento del tipo Box Bhenken para la etapa de precipitación isoeléctrica, considerando como puntos centrales los óptimos tradicionales.

La experiencia a escala laboratorio, por un lado, presento resultados satisfactorios dado que los productos obtenidos alcanzaron un contenido proteico que responde a las exigencias establecidas. Por el otro, las superficies de respuesta del modelado matemático, basado en los datos experimentales, arrojaron óptimos que difieren de los propuestos al utilizar harina o flakes de soja como materia prima.

Se concluye que al variar la materia prima, de harina a expeller de soja, las condiciones óptimas de operación también varían. Por lo tanto, para completar el estudio resulta relevante plantear en el futuro la optimización las condiciones de operación de la primera etapa del proceso. Por último, se alcanza el objetivo propuesto; agregar valor al subproducto generado por la industria PyME, lo cual permite escalar un nuevo peldaño en el desarrollo de la industria de la región.

CAPÍTULO I:

INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 INTRODUCCIÓN

El poroto de soja (*Glycyne max*) pertenece a la familia de las leguminosas, aunque por su elevado contenido de aceite se incluye también con las oleaginosas. En países orientales, como China y Japón, la soja representa desde hace miles de años un ingrediente fundamental en la dieta de un sector muy importante de la población (Baudi Dergal S., 2013; Genta & Alvarez, 2006). Por el contrario, la introducción de este cultivo en la agricultura Occidental es relativamente reciente y está vinculado principalmente con la producción industrial de aceite y proteína (FAO, 1992).

A pesar de que históricamente la relevancia de este cultivo estuvo relacionada con la extracción industrial de aceite, en las últimas décadas, se ha generado un gran desarrollo

científico y tecnológico para el aprovechamiento integral de las proteínas. Estas proteínas vegetales poseen propiedades nutritivas que representan una alternativa muy importante para suplir la deficiencia existente de proteínas de origen animal, como las de la leche, la carne y el huevo (Baudi Dergal, 2013; Cheftel et al., 1898; Baigorri & Salado Navarro, 2012).

La FAO en su estudio realizado en 1992, estimó que si el total de proteína obtenida en la producción mundial de soja por año fuese directamente utilizada para el consumo humano, sería suficiente para abastecer un tercio de las necesidades mundiales de proteína alimenticia. Sin embargo, hoy en día, la harina de soja a granel, un subproducto industrial de bajo valor agregado, es destinada fundamentalmente para la alimentación animal en producciones de carne y huevos (Vioque et al., 2001; IERAL, 2011).

La cadena de agregado de valor de la soja presenta un elevado número de productos que podrían utilizar dichas harinas como materia prima. Estos productos obtenidos a partir de la extracción y concentración de las proteínas de la harina de soja, además de incrementar el valor añadido de este subproducto, según Sunley (1995), brindan las siguientes ventajas:

- proveen una fuente de proteína más concentrada deseable para mejorar los requerimientos proteicos,
- mejoran las propiedades funcionales de las proteínas respecto a su forma original, ofreciendo aplicaciones en otros productos alimenticios, además, de aquellos puramente vinculados a una fuente proteica para propósitos nutricionales,
- reducen las propiedades menos deseables de la fuente proteica (ej. factores antinutricionales y características de flavor indeseadas) al ser sometidos a procesos de concentración, aislación y texturización.

A pesar de las ventajas y propiedades de los productos derivados de la soja con alto contenido proteico, los volúmenes de producción de concentrados y aislados proteicos de soja no se corresponden con los pronósticos optimistas predichos al promocionar los productos por primera vez. Esto se debe principalmente al alto costo de producción, como

también a limitaciones regulatorias y nutricionales, a la competencia con los productos texturizados de soja, y, finalmente, a la competencia con otros productos proteicos, particularmente caseínas y caseinatos derivados de la leche. En consecuencia, la proporción del consumo de estas proteínas directamente en nutrición humana ha sido relativamente baja (FAO, 1992).

1.2 GENERALIDADES

Botánicamente, la soja pertenece a la familia *Leguminosae*, subfamilia *Papilionoideae*, y al género *Glycine*, L. En forma de cultivo, es llamada *Glycine max (L.)* y es una planta anual de ciclo estival. Su planta es tupida con un rango de altura de 0,75 a 1,25 m, su ramificación puede ser escasa o densa, dependiendo de los cultivares y las condiciones de crecimiento (Liu, 1997).

Este cultivo fue introducido en nuestro país, con cierta importancia, en la década del 60. Paulatinamente se fue incrementando la superficie de siembra de tal forma, que de 50.000 Tn que se producían en 1970, se ha llegado a casi 50.000.000 Tn en la campaña 2012-2013. Dentro de los varios factores que contribuyeron a estos resultados se encuentra: la promoción del cultivo que realizó el gobierno nacional, los precios internacionales y las múltiples aplicaciones industriales que permiten un aprovechamiento integral del grano (Alessandria & Ruosi, 2009; MINAGRI, 2013; Baigorri & Salado Navarro, 2012).

Otros factores que también contribuyeron a la acelerada expansión del cultivo fueron el desarrollo de técnicas agronómicas adecuadas y el mejoramiento genético de cultivares. Lo cual favoreció la expansión del cultivo en una amplia región del país, con rendimientos siempre crecientes, a medida que se ajustaban las épocas y densidades de siembra, la aplicación de herbicidas, el curado de semillas, etc. Todos estos factores trajeron aparejada una mayor seguridad de cosecha para el productor. Se agrega a esto, el desarrollo que tuvo la industria aceitera a partir de disponer de materia prima suficiente (Alessandria & Ruosi, 2009).

1.3 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE SOJA

El fruto de las leguminosas es monocarpico, seco y dehiscente, que contiene de tres a cuatro semillas en su vaina. Cada grano de soja pesa entre 100 y 400 mg, dependiendo del genotipo y de las condiciones ambientales (Cuniberti & Trombetta, 1997).

La morfología de la semilla o grano de soja maduro comprende tres partes principales, la envoltura, los cotiledones y el hipocotíleo. La envoltura está formada por cuatro o cinco capas superpuestas de células de diferentes tipo (Cheftel et al., 1989). Además, dicha cobertura está marcada por un hilum o cicatriz que cambia de la forma lineal a oval. Su función es proteger al embrión de hongos e infección bacteriana antes y después de su plantación. Si esta se rompe, la semilla tiene la oportunidad de germinar (Liu, 1997).

Los cotiledones están constituidos por células alargadas llenas de “cuerpos proteicos” esféricos, de diámetro comprendido entre 2 y 10 μm y con numerosas “esferosomas” de aceite, de diámetro 0,1 a 0,5 μm . Estos cuerpos proteicos contienen la mayor parte de las proteínas del grano: proteínas de reserva (globulinas), que se hidrolizan durante la germinación y sirven así de sustrato nutritivo para el crecimiento del embrión. Las otras proteínas (de estructura, o funcionales, tales como las enzimas o inhibidores de enzimas) se localizan en el resto de la célula (Cheftel et al., 1989).

El embrión o germen tiene tres partes: radícula, hipocotíleo, y epicotíleo. La radícula e hipocotíleo, juntos son conocidos como hipocotíleo radicular o eje embrionario y se localizan debajo de la cobertura de la semilla en uno de los extremos del hilum, justo debajo del micropelo, que es un orificio pequeño formado por los tegumentos durante el desarrollo de las semillas. La tercera parte, el epicotíleo, es muy pequeño y está ubicado entre el par de cotiledones (Liu, 1997). La Figura 1.1 presenta la estructura de la semilla de soja con sus partes.

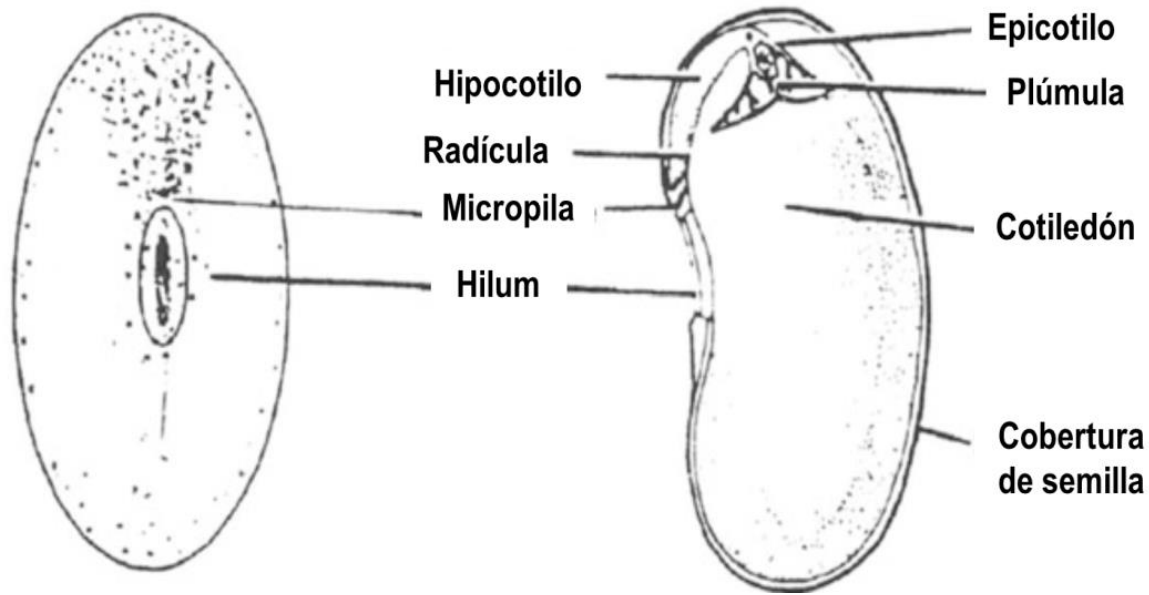


Figura 1.1. Estructura de una semilla de soja (Liu, 1997).

En cuanto a la composición promedio de la semilla de soja, en base seca, el aceite y la proteína juntos constituyen alrededor del 60 %, mientras el contenido restante son principalmente carbohidratos (35 %) y cenizas (5 %). El contenido de humedad, generalmente, es del 13 % para asegurar la estabilidad de almacenamiento. Por lo tanto, en una base húmeda, los porotos de soja contienen alrededor de 35 % de proteína, 17 % de aceite, 31 % de carbohidratos, y 4,4 % de cenizas (Cheftel et al., 1989; Liu, 1997).

En general, la soja cultivada se compone de aproximadamente 8 % cáscara, 90 % cotiledones, y 2 % eje hipocotíleo. Los cotiledones contienen un alto porcentaje de ambos, proteína y aceite, mientras que la cáscara tiene bajos valores de estos componentes. En realidad, el contenido de aceite en la cáscara es tan bajo que puede ser considerado como una cantidad de trazas. El eje de hipocotíleo tiene un contenido proteico similar a los cotiledones pero su contenido lipídico es casi la mitad que en los cotiledones. Como el cotiledón es el mayor componente en la semilla entera, su composición está muy cerca de aquella de la semilla entera independientemente de las diferencias composicionales entre las partes estructurales (Cheftel et al., 1989). La Tabla 1.1 describe la composición nutricional de cada una de las partes de la soja.

Tabla 1.1. Composición media de las diferentes partes de la semilla o grano de soja (Cheftel et al., 1989).

	% ponderal en la semilla	Composición (% P/P seco)			
		Proteínas (N x 6,25)	Lípidos	Glúcidos (incluye fibras)	Cenizas
Grano entero	100	40	20	35	4,9
Cotiledones	90	43	23	29	5,0
Envoltura	8	8,8	1	86	4,3
Hipocotíleo	2	41	11	43	4,4

La composición real de la semilla entera y sus partes estructurales dependen de muchos factores, incluyendo variedades, estación de crecimiento, localización geográfica, y estrés medioambiental (Liu, 1997). Por selección genética, se han logrado obtener variedades más o menos ricas en proteínas (40-45 %) y lípidos (18-20 %). Generalmente, a una ganancia del 1 % en peso de proteínas, corresponde un descenso del contenido en lípidos del 0,5 % (Cheftel et al., 1989).

Los componentes mayoritarios de los lípidos son triglicéridos. Dentro de los minoritarios se incluyen fosfolípidos, materiales insaponificables, ácidos grasos libres y trazas de metales. El material insaponificable consta de tocoferoles, fitoesteroles, e hidrocarburos. Las concentraciones de estos componentes minoritarios luego son eliminadas en el procesamiento típico de refinación de aceites (Liu, 1997).

Los glúcidos corresponden a polisacáridos insolubles tales como las hemicelulosas del tipo arabinogalactanos, las pectinas, la celulosa (responsables, con la lignina, de un contenido en fibras próximo al 5 %) y oligosacáridos solubles como hexosas, sacarosa, rafinosa, estaquiosa, verbacosa (Baudi Dergal, 2013).

En el grano, además, están presentes otros compuestos en pequeña cantidad tales como estrógenos, goitrogenos, fitatos, saponinas, esteroides, antivitaminas, factores alergénicos, etc. Estos compuestos, así como los inhibidores de enzimas y algunos polisacáridos, son,

en el aspecto nutricional y/o toxicológico, indeseables; por ello es necesario desnaturalizarlos por acción del calor o eliminarlos por extracción (Cheftel et al., 1989).

1.4 ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS DE SOJA

En general, las proteínas de las semillas se pueden clasificar de acuerdo a su función biológica o a su solubilidad. Al considerar su función biológica, las proteínas de las semillas pueden ser: proteínas metabólicas o proteínas de almacenamiento. Las proteínas metabólicas incluyen a las estructurales y enzimáticas, y son consideradas de interés en las actividades celulares típicas, incluyendo la síntesis de las del segundo tipo. Las proteínas de almacenamiento, junto con las reservas lipídicas, son sintetizadas durante el desarrollo de la semilla de soja para proveer el nitrógeno y carbono requerido en la siguiente etapa de germinación de la misma. En cuanto a los patrones de solubilidad, las proteínas de las semillas leguminosas se dividen en albuminas y globulinas. Las albuminas son solubles en agua, mientras que las globulinas son solubles en solución salina (Liu, 1997).

Bajo estos sistemas de clasificación, la mayor parte de la proteína de la soja es proteína de almacenamiento que se encuentra en forma de globulina. Las globulinas son subdivididas en: glicina y β -conglucina. Al comparar ambas globulinas, se establece que las glicinas tienen un tamaño molecular más grande, menor solubilidad en soluciones salinas, y mayor estabilidad térmica. Además, constituyen la mayor parte de las globulinas totales de la semilla leguminosa (Liu, 1997).

En una caracterización más profunda, las proteínas de la soja se clasifican de acuerdo con el coeficiente de sedimentación en la centrifugación, medido en unidades Svedberg, y así se obtienen las fracciones 2S, 7S, 11S y 15S, las cuales aumentan en peso molecular según el aumento respectivo de S. Cada una de estas fracciones está constituida por un grupo de polipéptidos, con un peso molecular y un punto isoeléctrico determinado (Baudi Dergal, 2013; Cheftel et al., 1989; Deak et al., 2008) Esto se logra disolviendo las proteínas de soja

en agua o a un pH ligeramente alcalino y, luego, separando en varias fracciones por cromatografía permeable de gel, electroforesis, centrifugación, etc. (Cheftel et al., 1989).

A continuación se describen las propiedades y características de las diferentes fracciones proteicas de la soja, también presentes en la Tabla 1.2. Al analizar la composición de dichas fracciones proteicas, se observa que la fracción proteica 2S contiene de 8 a 22 % de proteína extraíble, que son sensibles al calor, y predominantemente consisten en inhibidores de proteasas y enzimas. Las proteínas de la fracción 7S dan cuenta por el 35 % de las proteínas solubles y consta de enzimas, hemagluteninas, y proteínas de almacenamiento conocidas como la globulina 7S o β -conglucina. Esta globulina, una proteína globular de almacenamiento, compone casi el 85 % de la fracción proteica 7S y es un trímero o hexámero compuesto por dos péptidos similares que contienen cisteína, α y α' , y un glicosilado, péptido que no contiene cisteína. Estos péptidos formados por: serina, ácido aspártico y glutámico, alanina, glicina, valina, leucina y tirosina, están presentes en siete diferentes combinaciones y experimentan asociaciones y disociaciones complejas dependiendo del pH y la fuerza iónica, lo cual indica que su estructura cuaternaria es un complejo altamente organizado. Las proteínas de 11 S son en su mayoría glicina y componen del 31 al 52 % de la proteína soluble. La glicina es un hexámero, aunque la literatura antigua indica que es un dodecámero, de péptidos ácidos y básicos emparejados no aleatoriamente. Fueron identificados siete péptidos ácidos y ocho básicos. Por su parte, la fracción 15 S parece ser un polímero de la 11 S y es la fracción de mayor peso molecular (Baudi Dergal, 2013; Cheftel et al., 1989).

La glicina y globulina 7 S componen alrededor del 65-80 % de la proteína total en la soja, y casi toda la proteína recuperada en los productos proteicos de soja refinados son estas dos proteínas (Deak et al., 2008).

Tabla 1.2. Proporciones y características de las fracciones proteicas hidrosolubles del grano de soja (Baudi Dergal, 2013).

Composición de las fracciones proteicas hidrosolubles del grano de soja				
Fracción	% Total	pI	Componentes proteicos	Peso molecular*
2S	22	4,5	Inhibidores de tripsina	8.000 – 21.500
			Citocromo c	12.000
			Globulina 2.3S	18.200
			Globulina 2.8S	32.000
			Alantoinasa	50.000
7S	37	5,4 – 6,1	Hemaglutinina	110.000
			Lipoxigenasa	108.000
			β – Amilasa	61.700
			Globulina 7S o β - Conglicina	(186-210) x 10 ³
11S	31	4,8	Globulina 11S o Glicina	350.000
15S	11	4,8		600.000

*el peso molecular esta dado en masas molares.

Las proteínas de la soja, debido a sus complejas estructuras, son muy sensibles a muchos agentes desnaturizantes, como pH extremos, altas temperaturas, elevadas concentraciones de disolventes y sales, etc. De todos ellos, el efecto del calor es el más importante, dado que como consecuencia se produce la reducción de la solubilidad de las proteínas e inducción a la gelificación de las mismas. Esta última consecuencia, se debe a la capacidad que tienen de formar geles a través de distintos mecanismos basados en el fenómeno de asociación-disociación de las proteínas (Baudi Dergal, 2013).

1.5 PRINCIPALES USOS DE LA SOJA

A lo largo de los años, a este cultivo se le ha otorgado el título de “semilla milagrosa”, debido al número increíble y diverso de productos derivados de su procesamiento. Es por ello, que el objetivo de este punto es presentar un panorama general de los usos industriales de la soja.

Una clasificación de los usos de la soja propone su división en dos grupos, por un lado, los productos elaborados a partir de la semilla entera y, por otro, aquellos que derivan de las operaciones de molienda en las que la soja se fracciona en aceite y harina (FAO, 1992).

La mayor parte de sus aplicaciones son alimenticias, sin embargo, algunos productos han sido desarrollados con propósitos industriales o energéticos. Dentro de estas últimas, se encuentran los adhesivos y plásticos, que se producen a partir de aislados proteicos, y el biodiesel, que es el combustible elaborado a partir de aceite. A pesar de dicha versatilidad, aquí serán considerados solo los usos alimenticios, que están representados en la Figura 1.2.

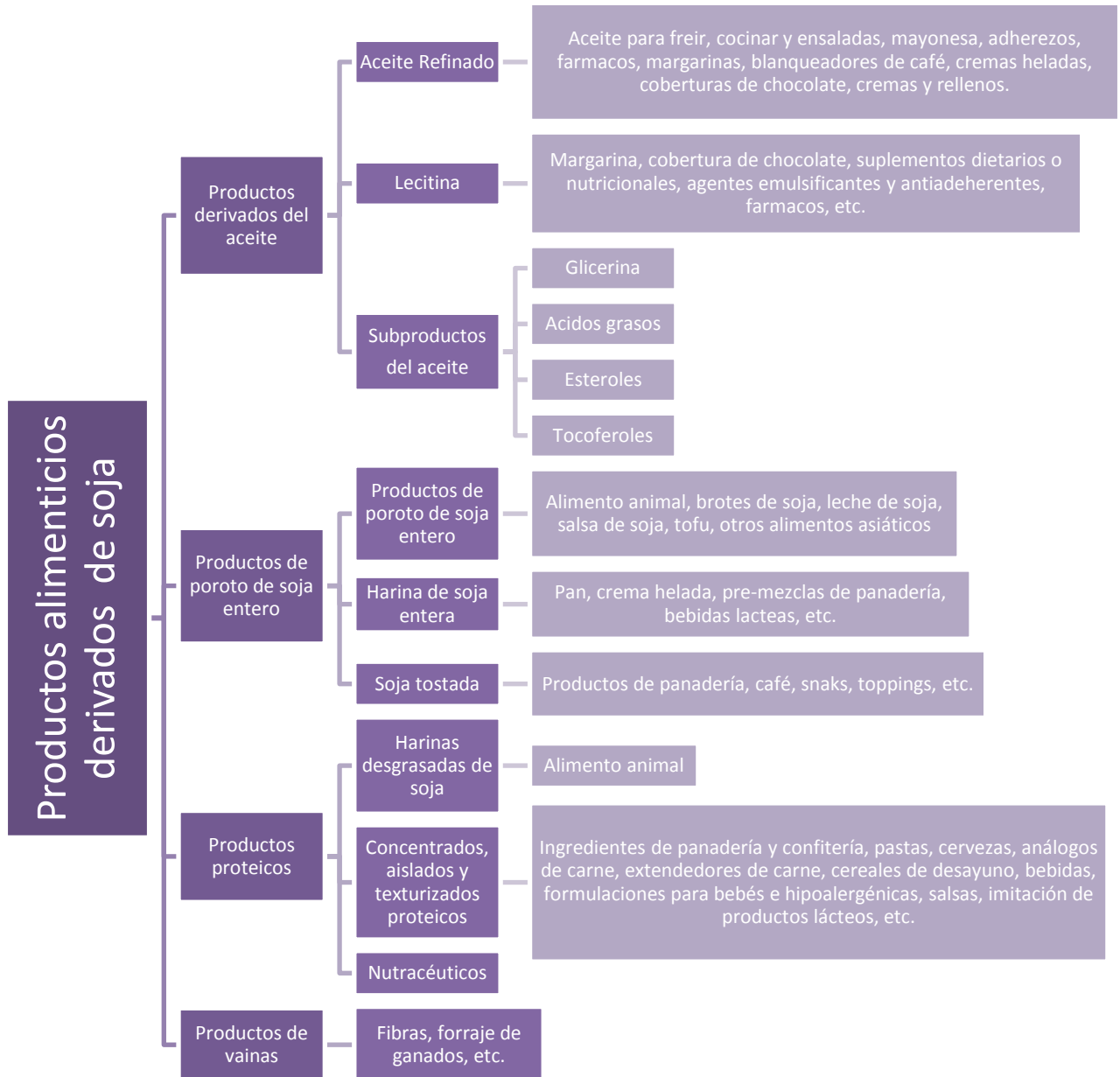


Figura 1.2. Usos de la soja. (Endress, 2001)

El crecimiento de la industrialización de la soja fue principalmente influenciado por la industria aceitera. En sus inicios, solo se aplicaba molienda y prensado para la extracción de aceite, mediante un proceso térmico que desnaturalizaba las proteínas de la soja y, como consecuencia, el subproducto era inapropiado para elaborar productos proteicos alimenticios funcionales. Por ende, las harinas obtenidas durante mucho tiempo solo fueron utilizadas como alimento para ganado o fertilizante (Liu, 1997).

Los avances tecnológicos en la extracción de aceite han permitido la producción de harinas de soja de alta calidad nutricional con una solubilidad óptima para la producción de concentrados, aislados y productos texturizados de soja. Desde entonces, ha habido un constante aumento de productos proteicos de soja para consumo humano, aparentemente debido a razones funcionales, nutricionales y económicas (Endress, 2001; Liu, 1997). Al introducirse el método de extracción de aceite por solvente, la harina de soja desgrasada resultante paso a tener una mínima desnaturalización de las proteínas y, según FAO (1992), se convirtió en el punto de partida para la producción de productos proteicos de soja. La llegada del desolventizador flash fue un progreso tecnológico que permitió reducir aún más la desnaturalización de las proteínas y facilitar la producción de ingredientes proteicos altamente solubles, aptos para la producción comercial de proteína de soja comestible (Liu, 1997).

En general, todos los sistemas alimenticios, incluyendo productos cárnicos, lácteos, panaderos, cereales de desayunos, alimentos para bebés, y bebidas, contienen proteínas de soja como un ingrediente, dado que su aplicación permite aumentar el valor proteico del producto final y sus propiedades funcionales (Liu, 1997).

1.5.1 Principales productos proteicos de soja

Harinas

Las harinas de soja se clasifican en función de su contenido lipídico en harinas sin desgrasar, desgrasadas y reengrasadas. En el caso de las harinas sin desgrasar, se trata de los productos proteicos de soja menos procesados que se producen mediante la molienda

de cotiledones de soja descascarados en tamaños específicos y que normalmente contienen 40 % de proteína (N x 6,25) en base húmeda. Por el contrario, las harinas de soja desgrasadas son preparadas mediante la molienda de la torta de soja obtenida de la extracción del aceite. En dicho proceso, se extrae con solvente el aceite de los cotiledones de la soja descascarada y laminada, alcanzando un contenido final de proteínas de 52 a 54 %. Estas harinas y sémolas con grasa y desgrasadas están disponibles en la forma de enzima-activa o en varios grados de solubilidad en agua, expresada como Índice de Dispersión de Proteína (IDP) o Índice de Solubilidad de Nitrógeno (NSI). Estos productos de enzima activa comúnmente son usados para aplicaciones de panadería. Por último, las harinas reengrasadas (0,5 a 30 %) son utilizadas para aplicaciones donde el flavor del aceite de soja crudo no es aceptable o la formulación debe ser provista de grasa para minimizar el polvo de la harina. Las harinas lecitinadas (0,5 a 30 %) son producidas para aplicaciones en las que es deseable una rápida dispersión de polvos la cual se facilita mediante la acción emulsificante de la lecitina (Deak et al., 2008; FAO, 1992).

Concentrados

Los concentrados proteicos de soja son productos elaborados a partir de harinas desgrasadas y contienen como mínimo entre 65 y 70 % de proteínas. Deak et al. (2008) considera que el porcentaje proteico mínimo debe ser del 65 %, mientras el Código Alimenticio Argentino y FAO proponen el 70 %. En su procesamiento se remueve la fracción de componentes solubles en agua o alcohol, especialmente los azúcares promotores de flatulencias y compuestos con flavors fuertes. Los tres métodos básicos para la remoción de carbohidratos son: lixiviación ácida (pH isoelectrico 4,5), extracción con etanol acuoso (60 - 80 %) y lixiviación con vapor. De todos ellos, la extracción con alcohol acuoso es el proceso más común (Deak et al., 2008; FAO, 1992; Liu, 1997).

Aislados

Según FAO (1992) y Deak et al. (2008), los aislados proteicos son los productos con las concentraciones más altas de proteína, alcanzando un 90 %. Estos productos son obtenidos por solubilización selectiva de la proteína (ej. extracción alcalina), seguida de

purificación del extracto y concentración de la proteína mediante precipitación isoelectrica, ultrafiltración o gelificación. El método ampliamente difundido es el de precipitación por acidificación hasta el punto isoelectrico. Estos productos son los productos proteicos de soja más refinados y se adicionan a los sistemas alimenticios por sus propiedades funcionales específicas, principalmente, como emulsificadores o formadores de espuma (Remondetto, González & Añón, 2002). Uno de los subproductos del proceso de aislación de proteínas, formado por el residuo insoluble, es también comercializado por su notable capacidad de absorción de agua y como fuente de fibra dietaria (FAO, 1992; Liu, 1997).

Productos proteicos de soja texturizados

Las “proteínas de soja texturizada” o “proteínas vegetal texturizada” son producidas, generalmente, por el método de extrusión termoplástica. En dicho proceso, se somete a la harina de soja desgrasada, con un contenido de humedad específico, a fuerzas de cizalla (fuerza de corte) y temperaturas altas en un extrusor, obteniendo un producto con una estructura laminar característica. Después de la hidratación, este producto presenta una textura gomosa y elástica parecida a la carne. La proteína de soja texturizada con un alto contenido proteico es producida por extrusión de concentrados proteicos de soja (FAO, 1992; Liu, 1997, Rickert et al., 2004).

Fibras hiladas de proteínas de soja

Las fibras hiladas de proteína de soja son producidas a partir de la dilución de aislados de soja en una solución alcalina fuerte. Esta solución se deja reposar y, luego, este líquido viscoso es inyectado dentro de un baño ácido, en el cual la proteína precipita en forma de finas fibras, que son estiradas, lavadas y recolectadas. Este producto de soja es utilizado en la manufactura de una variedad de análogos de carne, a los cuales les imparte un aspecto fibroso y masticabilidad similar a la del musculo animal (FAO, 1992; Liu, 1997).

Otros productos proteicos de soja

Se incluyen la leche de soja en polvo y tofu, así como también mezclas de harinas, concentrados y aislados con proteínas de leche y huevo, gelatinas, u otros componentes para aplicaciones específicas (Deak et al., 2008; Genta & Alvarez, 2006).

1.6 SITUACION DE LA INDUSTRIALIZACIÓN DE SOJA EN ARGENTINA

1.6.1 Panorama general

En los últimos 30 años, la soja ha demostrado un avance muy claro en la agricultura argentina. En la década del 70 era un cultivo casi inexistente, sin embargo, en la actualidad la superficie cultivada en todo el país creció casi al 50 %. Esta marcada expansión del cultivo de la soja es explicada por la incidencia de varios factores, el de mayor relevancia está vinculado con las condiciones del mercado internacional. Según la Organización de los Estados Americanos (2009), se podría afirmar que el papel que la soja tiene en la Argentina y el lugar que el país tiene en el mercado internacional de esta oleaginosa, se debe a las políticas económicas de dos de los principales mercados de agroalimentos actuales del mundo: la política agrícola proteccionista de la Unión Europea y la reforma económica que implementó China, que fue previa a su actual nivel de crecimiento económico. Además, se ha señalado que la expansión del cultivo se ha visto favorecida por factores tales como la mejora en los rindes debido a los avances tecnológicos y los patrones culturales operados.

La cadena de soja en la Argentina está compuesta por diversos actores que se distinguen entre sí por sus diversas actividades y escalas productivas. En el sector primario, existen los productores agrícolas tradicionales y los pools de siembra, que siembran y cosechan los granos de soja. En segundo término, se encuentran los transportistas y acopiadores, que pueden ser acopios para exportación o para posterior procesamiento. Por último, se encuentran los industriales tradicionales y los nuevos industriales de pequeña escala, que generalmente son pequeños grupos de productores o cooperativas que también procesan granos (IERAL, 2011).

La industria aceitera mundial encuentra su origen en el procesamiento de granos oleaginosos para la obtención de aceites vegetales de consumo humano o industrial. Durante mucho tiempo, el producto principal de la industria fue el aceite vegetal y la harina de soja un subproducto. Sin embargo, la situación se revierte sustancialmente en la última década. La principal causa de esta reversión la encontramos en el incremento de la producción intensiva de carnes en el mundo, en particular, la producción de carne aviar y porcina. En efecto, estas dos carnes son producidas, generalmente, bajo sistemas de tipo intensivos que utilizan harinas ricas en proteínas (harina de soja) como componente primordial de las dietas alimenticias de los animales. Por lo tanto, la demanda de soja es una demanda derivada de la demanda de harina de soja y, a su vez, la demanda de harina de soja es una demanda derivada de la demanda de carnes aviar y porcina (IERAL, 2011).

Por último, otro de los factores que influyó en la situación actual de la soja fue el cambio del paradigma internacional de comercialización. En Bisang, Anlló & Salvatierra (2010) se indica que el comercio mundial que previamente había estado centrado en el escaso intercambio de bienes primarios, en las últimas décadas evidenció un marcado dinamismo con una mayor preponderancia de semi-elaborados y productos finales. Esta situación derivó en una difusa división entre los actores y las actividades de la cadena; agricultura, almacenamiento, industria, distribución y comercio final, debido a la aparición de avances en las diversas etapas sobre las anteriores; por ejemplo, el productor comenzó a almacenar en su propio campo a través de silos bolsa, las cooperativas acopiadoras y grupos de productores incursionaron en el procesamiento de los granos mediante métodos alternativos, etc. Es decir, que el comercio que tradicionalmente operaba como nexo entre la producción primaria y las etapas industriales, se vio afectado por las nuevas tecnologías y modalidades operativas que van modelando una relación más fluida entre la producción y la industria, relativizando los perfiles comerciales previos.

En este nuevo escenario, el productor agropecuario ha dejado de ser considerado como un productor de productos primarios, para cumplir el papel de proveedor de materias primas requeridas tanto por la industria de alimentos como combustibles (Bisang, Anlló & Salvatierra, 2010). Como consecuencia de este nuevo paradigma, en los últimos años, en

Argentina se ha instalado un número considerable de plantas de extracción de aceite por el método de extrusado y prensado con una capacidad instalada de pequeña y mediana escala que varía de 1.000 a 10.000 Tn/día.

1.6.2 Producción de soja

La producción de soja en Argentina ha sido el motor del crecimiento de su producción de granos. Desde 1987 hasta 1997, la producción anual de soja se mantuvo latente rondando las 11 millones de toneladas. A partir de la temporada 1996/97, con la adopción de la semilla transgénica en la siembra de soja, la superficie dedicada al cultivo registra una tendencia claramente positiva, la que es acompañada por la producción.

Según datos del MINAGRI (2011), en Argentina se cosechan en promedio 47,2 millones de toneladas de soja al año bajo condiciones ambientales normales, cifra que está próxima a duplicar los 25,7 millones de toneladas promedio para el año 2000. En el año 2013/14, se cosecharon 53 millones de toneladas de las cuales se exportaron como grano entero 6,11 millones de toneladas y se procesaron 34 millones de toneladas (ASAGA, 2014).

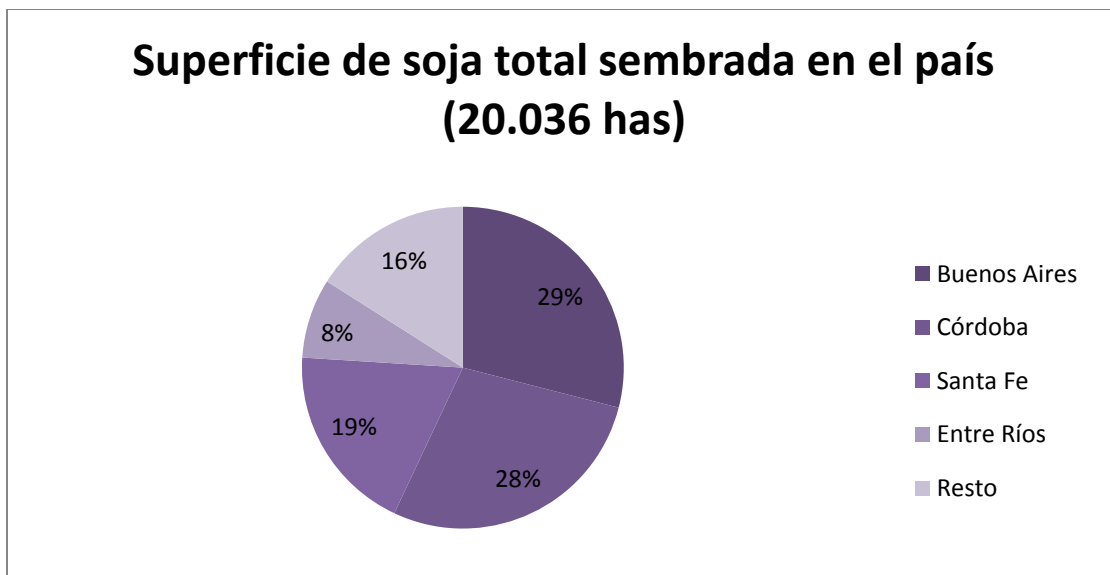


Figura 1.3. Superficie de soja sembrada en Argentina. (MINAGRI, 2013)

Respecto al mercado internacional de granos, se observa que la exportación mundial de granos de soja, tiene como principales actores a Estados Unidos, primer exportador, seguido por Brasil y Argentina. Este ordenamiento de países es similar al que tiene la producción de granos en general (IERAL, 2011). Por otro lado, China es el principal importador mundial, quien a pesar de ser el cuarto productor mundial de soja, no alcanza a abastecer su industria aceitera y su elevado consumo interno, debiendo acudir al mercado mundial para suplir faltantes. En promedio absorbe el 55 % de las importaciones mundiales de poroto de soja.

1.6.3 Procesamiento de soja

En Argentina, el procesamiento de soja está fuertemente liderado por la industria aceitera de extracción por solvente localizado en la provincia de Santa Fe. En efecto, de las 54 plantas industriales y más de 200 pymes de procesamiento de extracción de aceite de soja existentes en todo el país, esta última provincia cuenta con el 90 % de las mismas, seguida por las provincias de Buenos Aires y Córdoba, con el 7 % y el 4 % respectivamente (IERAL, 2011; Bragachini et al., 2012; Mendez et al., 2010).

El procesamiento de extracción de aceite de soja, en su gran mayoría, involucra a plantas de una capacidad instalada variable. El 88 % de la soja destinada a molienda, se procesa mediante extracción por solvente. Del mismo modo, el proceso de refinación se encuentra concentrado en cinco grandes empresas que lideran el mercado interno y la comercialización de las harinas proteicas que se procesan en forma de pellets para la fabricación de alimentos balanceados (MECON, 2011).

Según (MINAGRI, 2013), se clasifica a los productores locales de molienda de soja en los siguientes grupos:

- Grupo 1: la denominada industria aceitera tradicional, sector integrado por grandes empresas de capital nacional y extranjero, con fuerte vinculación tanto en la exportación de productos de todos los complejos oleaginosos, como con el

abastecimiento interno de aceites vegetales. Esta industria se caracteriza por disponer de alta tecnología, sistemas de producción capital intensivos, alta escala productiva y estructura logística.

- Grupo 2: a partir del ciclo 2007/08, se registra la incorporación de un nuevo segmento industrial vinculado con dos orígenes diferentes a la tradicional industria aceitera, a saber:
 - ✓ Empresas orientadas a la producción exclusiva de aceite para biodiesel de soja. Algunas de estas empresas productoras de biodiesel corresponden a las mismas firmas de la industria aceitera tradicional y, otras, son empresas pymes que destinan su producción de biocombustible al corte interno.
 - ✓ Empresas de alimentos balanceados.
- Grupo 3: PyMEs vinculadas a productores de soja que tienen como objetivo procesar su propia producción, bajo asociaciones o cooperativas. En general, se trata de plantas procesadoras de soja por el método físico de extrusión y prensado o poroto de soja desactivada apta para el consumo de animales monogástricos. Por un lado, el aceite crudo obtenido se vende a empresas de refinado o biodiesel y, por el otro, el subproducto obtenido llamado expeller se comercializa en el mercado interno con destino a alimento animal o se asocia a las empresas de alimento balanceado.

Cuando se realiza un análisis distributivo de todo el sector industrial, se observa una fuerte concentración productiva. El 88 % de la producción de harina de soja es producida por las 10 principales firmas con mayor capacidad instalada, las que a su vez comprenden el grupo de la industria aceitera tradicional. Sin embargo, el proceso abierto en el ciclo 2007/08, que muestra la incorporación de nuevas firmas PyMEs en la producción de harina de soja y expeller, determina una mayor diversificación productiva. Entre el ciclo 2007/08 y el 2011/12 se conformaron 91 nuevas firmas, aumentando el total computado de plantas de molienda de 54 a 145.

En el año 2013, se obtuvieron 6,4 millones de toneladas de aceite de soja. Del total de la producción de aceite crudo de soja, el 67% se destina a la exportación, el 27% a la producción de biodiesel y el resto a la refinación; tanto para consumo doméstico como para otras industrias.

La evolución del mercado de harina de soja en los últimos años derivó hacia la utilización integral del resto del grano de soja que no se transforma en aceite, originando un variado conjunto de bienes, englobados en la denominación de harinas, que se destinan al consumo animal.

Se presenta una descripción de la distribución de los productos englobados como harina de soja, agrupados según el grupo de empresa que predomina en su elaboración.

1. Con alto predominio de la industria aceitera tradicional en su procesamiento se encuentran: harina de extracción de soja, harina de soja, otros productos de soja, pellets de soja. En el ciclo 2011/12 la producción de estos productos se calculó en 22,3 millones de toneladas y fue realizado por 30 plantas.
2. Con alto predominio de la industria aceitera tradicional productora de “pellets high pro”, se encuentra: cáscara de soja y otros pellets. Cabe precisar que esta producción supera largamente el millón de toneladas.
3. Con alto predominio de las PyMEs vinculadas a productores de soja, se encuentra el expeller de soja, con una producción medida para el ciclo 2011/12 de 370 mil toneladas, la que fue procesada por 119 firmas.
4. La producción de soja desactivada, con un volumen en 2011/12 del orden de las 10.000 toneladas, registradas en 6 plantas.
5. La producción del resto de los productos, a saber: desechos de soja, sojilla, proteínas de soja y texturizados de soja; con una producción de 9574 toneladas y participación de 24 plantas.

De todos modos, se estima que el porcentaje de soja procesada por Extrusado y prensado ha aumentado en los últimos tres años, debido a la incorporación de nuevas líneas de producción en las plantas instaladas previo al 2012 y de nuevas plantas de procesamiento.

En el comercio mundial, la exportación de aceite y harina está concentrada en Argentina y Brasil, países que en conjunto exportan el 68,3% del total comercializado. Esta cifra está compuesta por 40,4 millones de toneladas de harina de soja y 5,8 millones de toneladas de aceite (MECON, 2011).

Históricamente, Argentina ha ocupado un lugar de liderazgo en la exportación de aceite y harina de soja. Sin embargo, en la actualidad la exportación de aceite de soja disminuyó debido a la demanda de dicho producto para la elaboración de biodiesel. Por el contrario, Argentina a pesar de ocupar el cuarto puesto en el ranking de producción mundial de harina de soja, es el líder en la exportación con 26,07 millones de toneladas, volumen que representa el 44% del comercio mundial. Le siguen en importancia Brasil y Estados Unidos.

Tabla 1.3. Exportaciones argentinas de soja y sus derivados para el año 2012 (ASAGA, 2014)

Producto	Volumen exportado (Tonelada métrica)	Principales destinos de las exportaciones
Grano de soja	6.114.141	China
Aceite crudo de soja	3.686.348	India y China
Aceite refinado de soja	80.593	Angola y Chile
Pellets y harinas de soja	22.162.967	Europa y Asia

En la actualidad, los únicos productos proteicos de soja que se elaboran en Argentina son los texturizados de soja, siendo muy bajo el volumen de producción. En el caso de concentrados y aislados proteicos de soja, se importan, principalmente de EEUU y China, aproximadamente 4 mil toneladas de concentrados, 2 mil toneladas de aislados y 21 toneladas de productos farmacéuticos o cosméticos provenientes de los Países Bajos y EEUU, todos destinados para empresas de aditivos e industrias cárnicas.

1.7 PLANTEO DE LA PROBLEMÁTICA

En función de la situación descrita anteriormente, se observa que, por un lado, existen distribuidas a lo largo de toda la región pampeana un gran número de plantas PyMES que se dedican a la extracción de aceite por el método físico de extrusado y prensado, llegando a procesar solo el 8 % del total de soja producido en nuestro país. Estas empresas, comercializan aceite crudo y expeller de soja, un subproducto que difiere de las harinas, principalmente, por su contenido residual de aceite y la calidad de sus proteínas. Por el otro, sabemos que no existe producción nacional de concentrados y aislados proteicos de soja a pesar de que existe demanda interna de los mismos.

Es por ello, que resulta interesante realizar un producto proteico de soja utilizando como materia prima este nuevo subproducto, de modo que se agregue valor a la industria PyME y se provea a la industria alimenticia de productos proteicos a un costo menor que el de importación. El proyecto resulta novedoso e interesante porque hasta el momento no se han publicado trabajos o patentes al respecto.

Los procesos conocidos para la producción de concentrados y aislados proteicos de soja están ajustados para harina de soja, la cual tiene un contenido proteico superior al expeller y un contenido lipídico inferior. Por lo tanto, al partir de la materia prima expeller aplicando los métodos desarrollados para harinas y/o flakes, se estima alcanzar niveles de concentración proteica inferior a los predichos. Sin embargo, estos niveles podrían ser aceptables y darían una solución satisfactoria a la demanda local de productos proteicos de soja.

CAPÍTULO II:

PRODUCTOS PROTEICOS DE SOJA: CONCENTRADOS Y AISLADOS

2.1 DEFINICIÓN DE PRODUCTOS PROTEICOS DE SOJA

Cabe destacar que todos los productos proteicos de soja que se elaboran a partir de harina o flakes de soja deben cumplir con las características definidas en el Artículo 1407 del Código Alimenticio Argentino (ANMAT, 2010), el cual expresa que los diversos tipos de harina de soja obtenidos a partir de las semillas de *Glycine Max (L) Merrill*, responderán a las características expuestas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Composición de la Harina de Soja (ANMAT, 2010).

Composición de los diversos tipos de harina de soja que se consideran			
	Harina sin desgrasar (%)	Harina con bajo contenido de grasa (%)	Harina desgrasada (%)
Humedad 100-105°C máx.	9	9	9
Proteína (N x 6,25) mín.	35	45	50
Grasa (extracto etéreo) mín.	18	4,5-9	máx 2
Fibra cruda máx.	3,0	3,3	3,5
Cenizas (500-550°C) máx.	5,5	6,5	6,5

Además, que las harinas tostadas deberán cumplir los siguientes requisitos:

a) Valor nutritivo:

- Lisina disponible mín 5 g/16 g N
- PER (Relación Eficiencia Proteínica) mín 2,0
- UPN (Utilización Proteínica Neta) mín 60,0
- Actividad ureásica (AOCS. BA. 9-58) máx 0,30

b) Inocuidad:

- Recuento bacteriano total, máx 20.000/g
- Termofílicas (Est. Am.Nat.Ass.), máx 1.500/g
- Esporas, máx 10/10/g
- Levaduras y Mohos, máx 50/g
- Coliformes, negativo
- Agentes patógenos entéricos:
 - ✓ Aflatoxinas, inferior a 0,03 µg/g
 - ✓ Clostridium perfringens, máx 100/g
 - ✓ Paracolons, negativo/50/g
 - ✓ Salmonella, negativo/50/g
 - ✓ Staphylococcus, negativo/g
 - ✓ Streptococcus faecalis, negativo/g

Las harinas de soja no tostadas podrán ser usadas con fines industriales, siempre que los procesos posteriores a los cuales serán sometidos aseguren una efectiva inactivación de los factores nutritivos y microbiológicos.

2.1.1. Concentrados proteicos de soja

Según el Artículo 1410 - (Res 126, 29.1.80) del Código Alimentaria Argentino, se define a los "Concentrados de Soja o Soya como el producto obtenido a partir de las semillas de variedades de *Glycine Max (L) Merrill* o de sus harinas o sémolas. Deberá contener como mínimo 70 por ciento de proteínas (N x 6,25) sobre base seca y cumplir con los requisitos de valor nutritivo e inocuidad establecidos para las harinas" (ANMAT, 2010).

La Asociación Oficial de Control de Alimentos de EEUU (AAFCO), en su punto 84.12 define a los "Concentrados proteicos de soja elaborados a partir de semillas de soja descascaradas, limpias, de alta calidad mediante la remoción de la mayor parte del aceite y de los componentes no proteicos solubles en agua y deben contener no menos de 70% de proteína en base libre de humedad" (FAO, 1992).

Existen tres tipos básicos de concentrados proteicos de soja, que se diferencian entre sí de acuerdo con el método de extracción utilizado para extraer los compuestos solubles no proteicos, los cuales son descriptos en el siguiente capítulo. Estos tres tipos, básicamente, presentan una composición similar en base seca: 70 % proteínas, 20 % carbohidratos insolubles, 5 - 8 % cenizas y 1 % lípidos (FAO, 1992).

2.1.2. Aislados proteicos de soja

Según el Artículo 1411 – (Res. 126, 29.1.80) del Código Alimentario Argentino, se define a los aislados proteicos de soja como los productos resultantes de la separación de la mayor parte de los compuestos de las semillas de variedades de *Glycine Max (L) Merrill* o de sus harinas o sémolas que no sean las proteínas. Su contenido proteico no será inferior a 90 % (N x 6,25) sobre base seca. El valor nutritivo de este producto expresado como PER

(Relación de Eficiencia Proteínica) no será menor de 1,8 y la inocuidad será la misma establecida para harinas en el Artículo 1407 (ANMAT, 2010).

Por otra parte, la Asociación Oficial de Control de Alimentos de América (AAFCO) en su definición considera que “El Aislado Proteico de soja es la mayor fracción proteica de porotos de soja preparados a partir de soja desvainada mediante la remoción de la mayoría de los componentes no proteicos y debe contener como mínimo 90 % de proteína en base seca” (FAO, 1992).

La composición típica de un aislado proteico de soja es 90 % proteína, 0,5 % grasas, 4,5 % cenizas, 0,3 % carbohidratos totales (Kolar et al., 1985).

2.2 PRINCIPALES USOS Y APLICACIONES DE LOS AISLADOS PROTEICOS DE SOJA

Los aislados proteicos de soja y sus respectivos proteinatos tienen propiedades funcionales específicas que les permite modificar las propiedades físicas de productos alimenticios. Se caracterizan por poseer propiedades funcionales específicas como solubilidad, gelificación, emulsificación, dispersión, viscosidad y replica de estabilidad (Endress, 2001; FAO, 1992).

Los rangos de valores de cada una de estas propiedades funcionales son muy variables y están modificadas en función de su aplicación posterior. En general, sus características son diseñadas y dependen de la concentración, funcionalidad, y presencia o ausencia de sales. En el caso de aislados neutralizados, estos son altamente solubles y ciertos tipos gelifican bajo condiciones acuosas apropiadas. Además, poseen ambas propiedades emulsificación y estabilización de la emulsión, son excelentes aglutinadores de agua y grasa, y son buenos agentes de adhesión. Ellos varían principalmente sus características de dispersión, gelificación, y viscosidad (Endress, 2001).

2.2.1. Tipos de aplicaciones

Productos cárnicos

En emulsiones de carne triturada; tipo salchichas Franckfurts o Boloña, los aislados proteicos de soja y proteinatos son usados por sus propiedades vinculadas con la humedad y grasa y como estabilizadores de emulsión. Su utilización, permite reducir la extensiva proporción de carne en las formulaciones, sin reducir el contenido de proteína o sacrificando la calidad del alimento.

Los métodos de incorporación de productos proteicos de soja dentro del musculo completo de carne, implican la dispersión de los aislados proteicos de soja en formulaciones de salmuera para curar la carne e inyectarlos dentro del musculo completo usando bombas de puntadas. También es posible incorporar la proteína mediante la aplicación superficial de salmueras que contengan la proteína, seguidas por un masaje o tumbling, como prácticas en el curado de carnes industriales. Formulaciones de salmuera típicas contienen sales, azucares, fosfatos, nitrito y/o ácido ascórbico.

Productos de mar

La aplicación más importante en esta categoría es el uso de aislados proteicos de soja en salchichas de pescado y surimi basados en productos reestructurados de Japón.

Productos farináceos

Algunas veces los aislados proteicos de soja son usados en la formulación como reemplazantes de leche mezclados en productos de confitería. Los aislados proteicos de soja han sido utilizados para la fortificación de proteína de pastas y panes especiales. En estas aplicaciones, el alto contenido proteico e insipidez de los aislados son claras ventajas.

Productos lácteos

Los aislados proteicos de soja son usados como blanqueadores de café sin lácteos, toppings de crema batidas líquidas, cremas agrias emulsificadas o aderezos de queso, postres congelados no lácteos, etc. Las bases de aplicación de los mismos es demandada por productos alimenticios sin lácteos (todos los vegetarianos, libres de colesterol, libre de alérgenos), así como también más económicos.

Formulaciones infantiles

Las formulas infantiles donde los sólidos de leche han sido reemplazados mediante aislados proteicos de soja, debido a su insipidez, ausencia de azúcares que producen flatulencia e insignificante contenido de fibras. El principal mercado de estos productos son los bebés intolerantes a la lactosa. Sin embargo, las formulas dietéticas basadas proteína de soja tienen un uso creciente en alimentos para geriátricos y pacientes de post operatorios como también en programas de reducción de peso.

Otros usos

Las proteínas de soja parcialmente hidrolizadas poseen propiedades de formación de espumas de buena estabilidad y pueden ser usados como agentes de batido en combinación con albumina de huevo en productos de confitería y postres.

Los aislados proteicos de soja han demostrado ser un ayudante de secado spray efectivo en purés de frutas. En esta aplicación, puede reemplazar maltodextrinas, con la ventaja de aportar proteínas al producto final.

CAPÍTULO III:

PROCESOS DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS Y AISLADOS PROTEICOS DE SOJA

3.1 INTRODUCCIÓN

El estado del arte de los procesos de obtención de concentrados y aislados proteicos de soja ha relevado publicaciones y patentes disponibles, que describen diferentes métodos de extracción de proteínas. La bibliografía también propone varios métodos de producción de concentrados y aislados proteicos de soja, entre los más difundidos Baudi Dergal (2013), Deak et al. (2008), Liu (1997), Sunley (1995) y Vioque et al. (2001) describen la precipitación isoelectrica, la ultrafiltración, la extracción por hinchamiento de gel y el

agregado de sales entre otros. Sin embargo, todos convergen en el método de precipitación isoelectrica, denominándolo método convencional o comercial, para la producción de aislados.

3.1.1. Panorama mundial del desarrollo tecnológico para concentrado y aislado de proteínas de soja

Si bien la búsqueda bibliográfica tanto de libros técnicos como artículos científicos forma parte de una buena base de conocimientos para el desarrollo de una tesis de maestría, no deja de ser importante, el relevamiento de patentes tecnológicas del producto a elaborar y/o analizar, sobre todo para trabajos donde el desarrollo tecnológico de un producto es el principal eje.

En las próximas secciones se muestra el panorama mundial de solicitudes de patentes tecnológicas para los productos concentrado y aislado de proteínas de soja. El objetivo de este análisis es presentar quienes son los países líderes del sector, ver la evolución del desarrollo tecnológico y, a su vez, poder detectar posibles tecnologías emergentes.

La Figura 3.1 presenta los principales países solicitantes de patentes para procesos y productos de concentrados y aislados de proteínas de soja, donde Estados Unidos lidera el sector de ambos productos en cuanto a la protección de los procesos y productos para su país, seguidos por los tratados PCT (Tratado de Cooperación en materia de Patentes), que consiste en una protección internacional para las invenciones en 148 países y en tercer lugar se encuentra Canadá. Para concentrados de proteínas de soja se encontraron 3034 solicitudes de patentes a nivel mundial y para aislados de proteínas de soja 2862 solicitudes. Del análisis se pudo observar que no hay protección de tecnologías para la fabricación de ambos productos en Argentina, por lo que marca que este tipo de productos consumidos en nuestro país son de importación.

En Argentina, 19 es el total de empresas importadoras de productos proteicos de soja; concentrados y aislados, las cuales están relacionadas con la industria cárnica,

farmacéutica y de aditivos alimentarios. Por un lado, las importaciones de concentrados y aislados se resumen en un total de 15 empresas de índole tanto cárnica como de aditivos alimentarios, que reúnen un volumen de importación de 4.438 toneladas de concentrado a un precio promedio de 2.100 dólares/tn y 2.251 toneladas de aislados a 3.700 dólares/tn promedio. Por el otro, tanto el número de empresas como el volumen de importación de productos proteicos de soja específicos es inferior comparado con el de concentrados y aislados tradicionales, corresponde a 4 son las empresas importadoras que están relacionadas con la industria farmacéutica. El volumen total es de 21 toneladas de productos farmacéuticos y cosméticos, sin embargo, estos productos alcanzan un valor promedio de 7.500 dólares/tn, con un rango de valores de 6.000 a 53.670 dólares/tn.

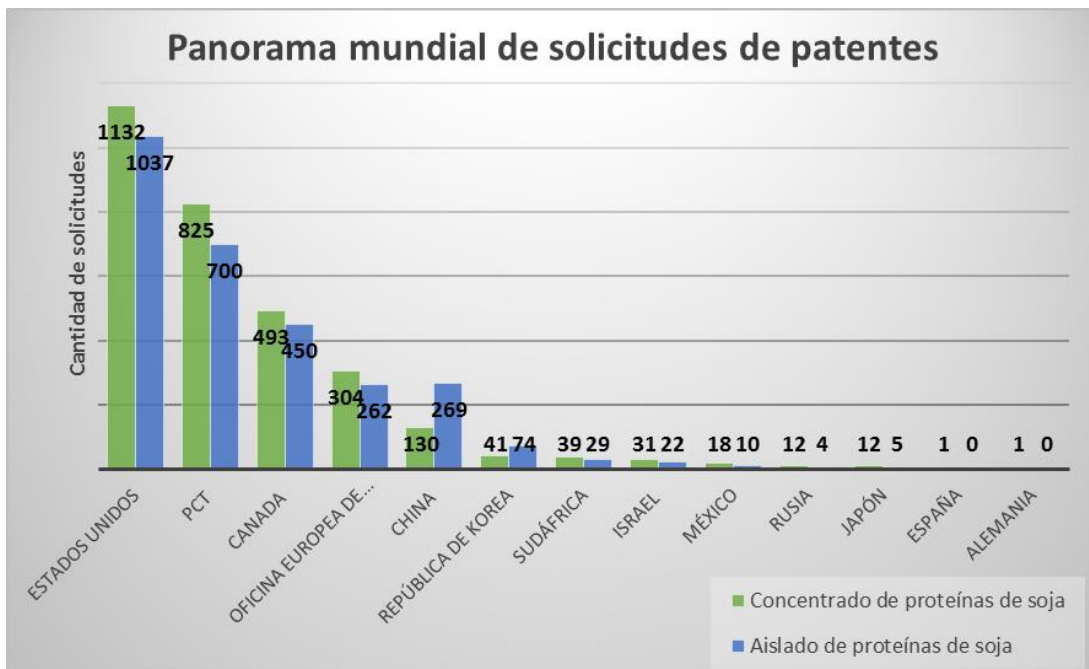


Figura 3.1. Solicitudes de patentes para concentrados y aislados de proteínas de soja en los principales países tecnológicos

Las empresas líderes a nivel mundial se detallan en la Figura 3.2, donde se puede apreciar que SOLAE lidera el mercado de ambos productos, posteriormente Nestec y Abbott secundan el mercado y luego existen otras seis empresas con gran desarrollo.

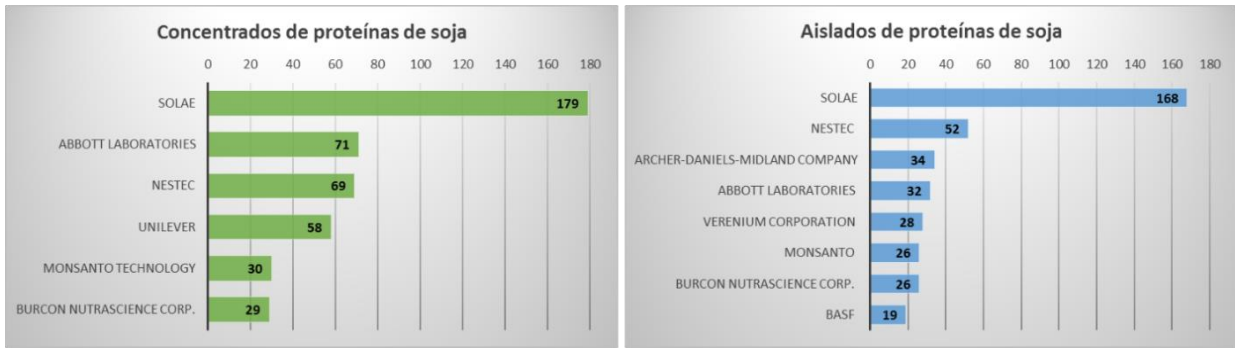


Figura 3.2. Principales empresas solicitantes de patentes vs. Cantidad de solicitudes para concentrados y aislados de proteínas de soja.

Si se analiza la protección de tecnología de las mencionadas empresas en el tiempo, se puede apreciar en la Figura 3.3 para concentrados de proteínas de soja, que en los últimos años Nestec y Abbott, fueron las empresas líderes, mientras que 5-7 años atrás Solae y Unilever lideraban las solicitudes mundiales para el mencionado producto. También se observa en la Figura 3.3, que Burcon es la empresa emergente para concentrados de soja, donde a partir del 2010 comienza con la presentación de solicitudes de patentes tecnológicas. Por otro lado, para aislados de proteínas de soja, Nestec y Verenium son las empresas que en los últimos años han liderado el sector, mientras que 5-7 años atrás, Solae ampliamente fue el líder en desarrollo tecnológico.

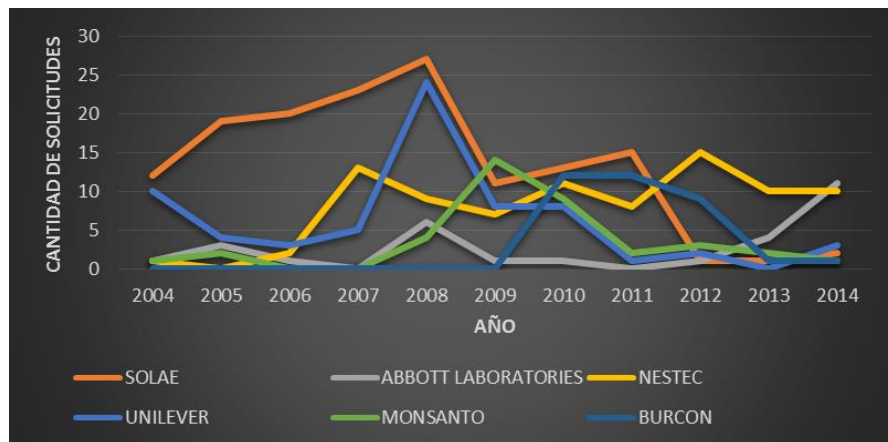


Figura 3.3. Evolución temporal de las principales empresas solicitantes de patentes tecnológicas para concentrados de proteínas de soja

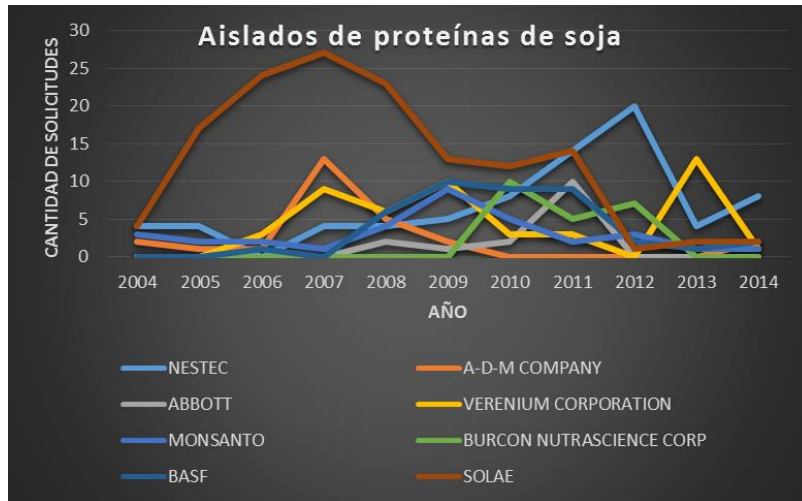


Figura 3.4. Evolución temporal de las principales empresas solicitantes de patentes tecnológicas para aislados de proteínas de soja

Si se analiza el panorama temporal mundial para ambos productos en la Figura 3.5, se puede ver que son productos con alta demanda a nivel mundial, dado que presentan un número sostenido de solicitudes de patentes a nivel mundial en los últimos años, ninguna empresa invierte en protección de la propiedad intelectual, en productos que no tienen demanda comercial.

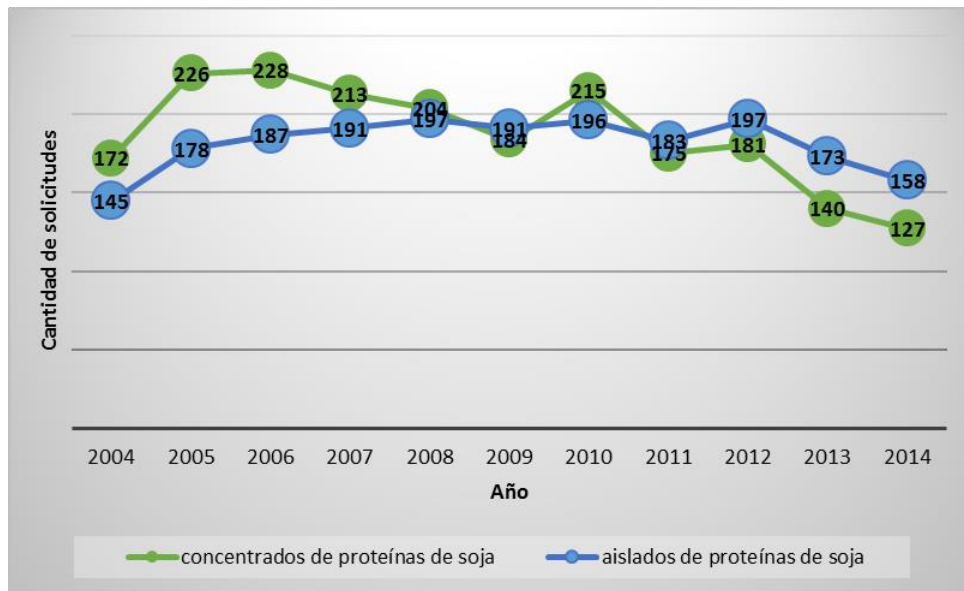


Figura 3.5. Tendencia anual de solicitudes de patentes para concentrados y aislados de proteínas de soja

La Figura 3.6, muestra los principales CIP a nivel mundial de solicitudes de patentes para concentrados y aislados de proteínas de soja, mientras que en las Figuras 3.7 y 3.8, presentan detalladamente los principales CIP para las empresas productoras de concentrados y aislados de proteínas. La Clasificación Internacional de Patentes (CIP), según la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual, es “un sistema jerárquico donde el ámbito de la tecnología se divide en una serie de secciones, clases, subclases y grupos. La Clasificación constituye una herramienta que no depende de idioma alguno y que es indispensable para la obtención de documentos de patente en las búsquedas que se realizan en el “estado de la técnica””.

En la Figura 3.6 se aprecia que los principales CIP están relacionados a productos alimenticios, pero en tercer y cuarto puesto aparecen CIP relacionados a preparaciones medicinales (A61K y A61P), y microorganismos (C12N). De las figuras 3.6, 3.7 y 3.8, se puede ver que los principales CIP relacionados a productos de soja para uso alimenticio corresponden a:

Tabla 3.1 Nombre y descripción de los productos de soja para uso alimenticio de la Clasificación Internacional de Patentes.

Nombre	Descripción
A23L	Alimentos, productos alimenticios o bebidas no alcohólicas; su preparación o tratamiento (ej. cocción, modificación de las cualidades nutricionales, tratamiento físico), conservación de alimentos o de productos alimenticios, en general.
A23J	Composiciones a base de proteínas para la alimentación, tratamiento de proteínas para la alimentación, composiciones a base de fosfátidos para la alimentación.
A23C	Productos lácteos (ej. leche, mantequilla, queso), sucedáneos de la leche o el queso, su fabricación.
A23K:	Alimentos para animales.
A23G:	Cacao, productos a base de cacao (ej. chocolate), sucedáneos del cacao o de los productos a base de cacao, confitería, goma de mascar, helados, su preparación.
A21D:	Tratamiento (ej. conservación de la harina o de la masa, por adición de

	ingredientes), cocción, productos de panadería, su conservación.
A23P:	Conformación o tratamiento de productos alimenticios.
A23D:	Aceites o grasas comestibles (ej. margarinas, shortenings, aceites para cocinar).
C11B:	Producción (ej. por prensado de materias primas o por extracción de materias residuales, refinado o conservación de grasas, sustancias grasas).
A23L:	Alimentos, productos alimenticios o bebidas no alcohólicas. Conservación de alimentos o de productos alimenticios, en general.



Figura 3.6. Principales CIP a nivel mundial para el patentamiento de concentrados y aislados de proteínas de soja

Por último, se puede observar en la Figura 3.8, que los perfiles de las empresas Verenum Corporation y Basf, son las que menos desarrollo de tecnología han solicitado relacionado al procesamiento de alimentos, dado que sus principales CIP, están orientados a reproducción de plantas y productos donde intervienen microorganismos.

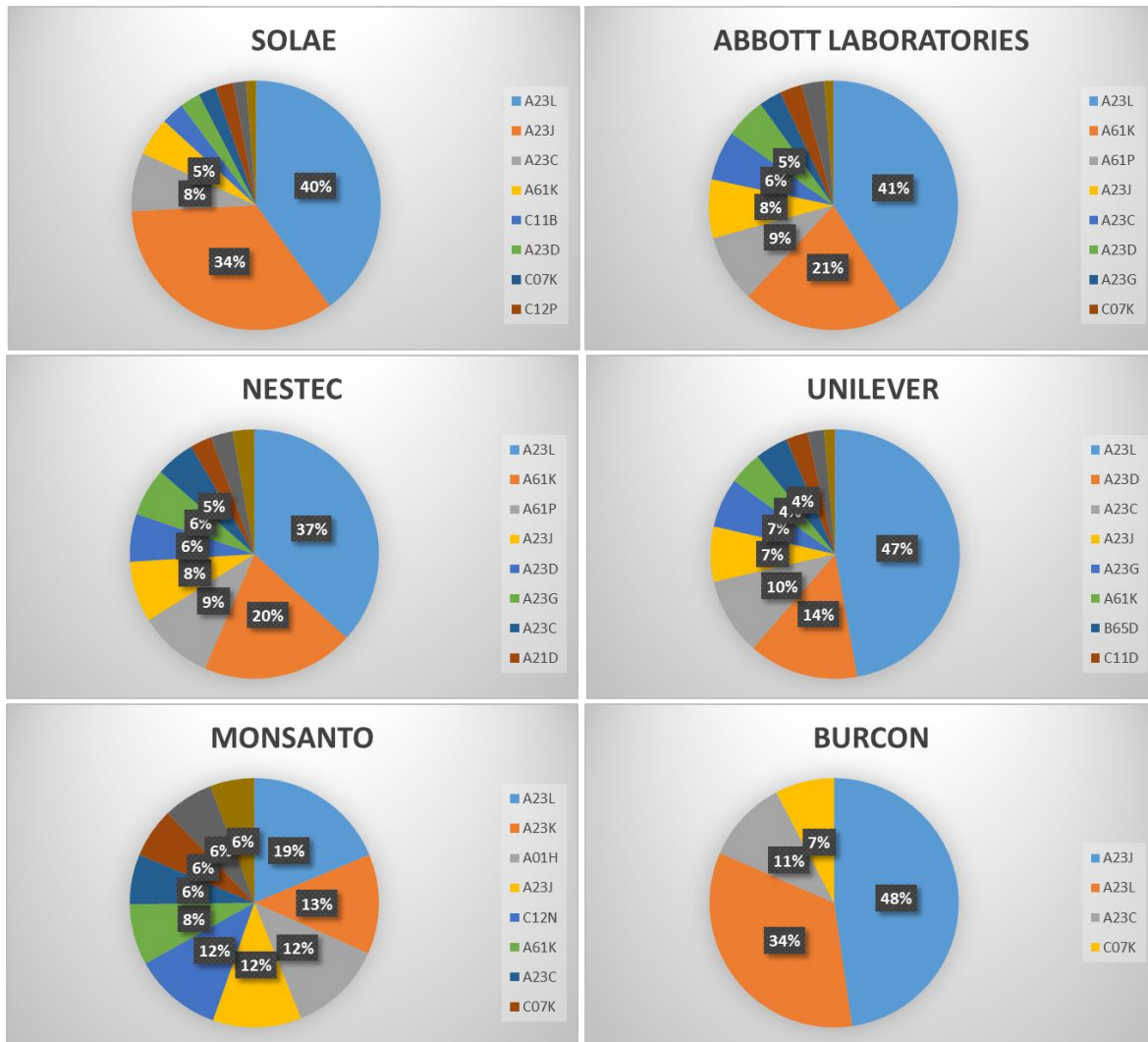


Figura 3.7. Principales CIP para el patentamiento de productos y procesos relacionados a concentrados de proteínas de soja

Como conclusión de esta sección, se puede rescatar, que en los últimos 10 años, ha habido un gran desenvolvimiento a nivel mundial en cuanto a la tecnología de productos y procesos para concentrados y aislados de proteínas de soja, con una fuerte inversión de capital en I+D de diversas empresas internacionales, el cual está relacionado con una alta

demanda comercial de ambos productos en varios países, dado que ninguna empresa invierte en protección intelectual de procesos o productos que no tengan demanda comercial. Por último, se pudo observar que no hay empresas nacionales o multinacionales interesadas en proteger sus procesos en Argentina, posiblemente porque son productos que todavía no se encuentran en producción masiva.

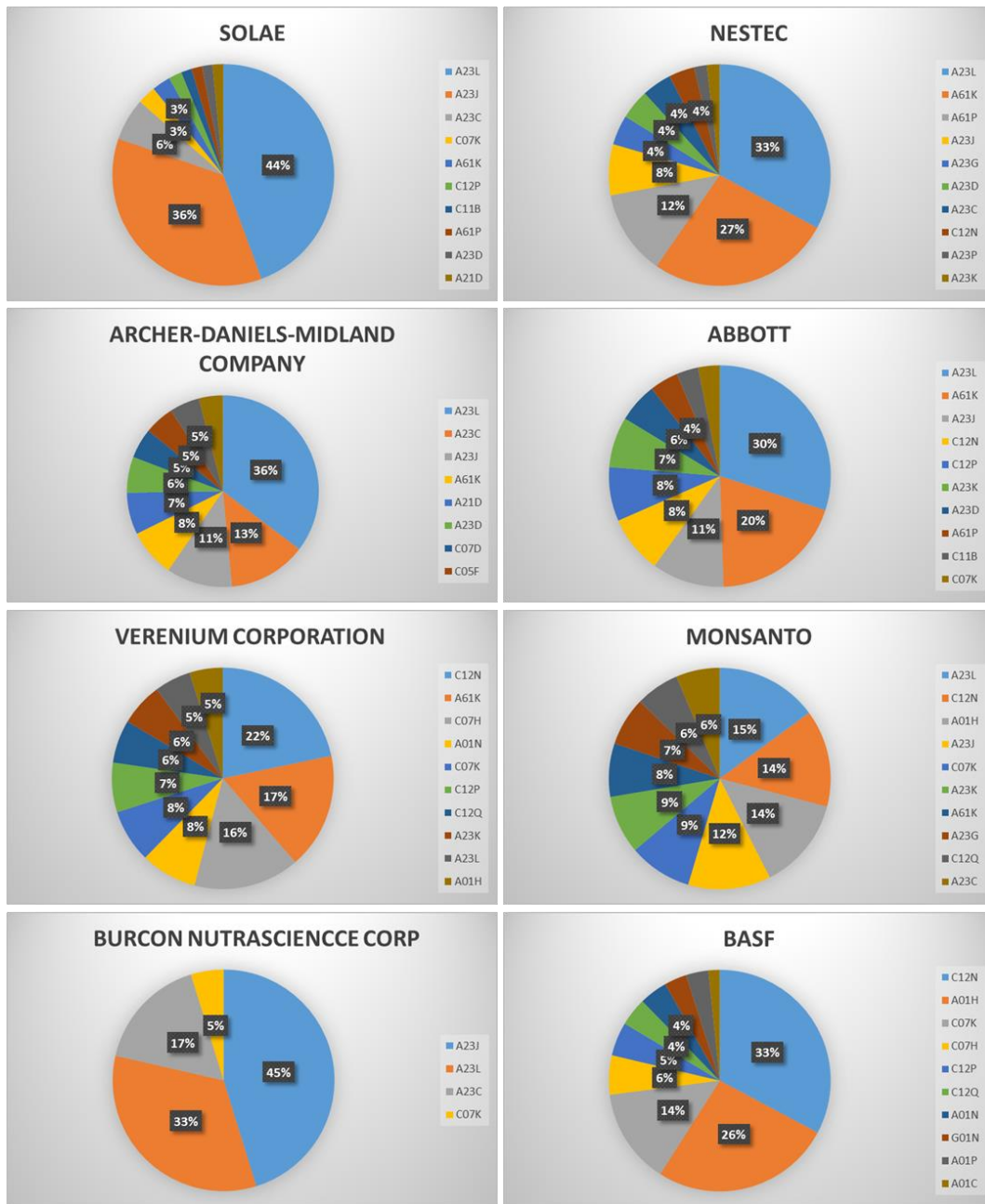


Figura 3.8. Principales CIP para el patentamiento de productos y procesos relacionados a aislados de proteínas de soja

En general, estos productos proteicos son elaborados utilizando harina o flakes de soja como materia prima. Dichos subproductos son generados en la extracción de aceite con solvente y difieren de los expellers, subproducto obtenido de la extracción de aceite de soja al aplicar extrusado y prensado, en la composición nutricional, tanto en el contenido de proteínas como en el contenido de aceite residual. En la actualidad, no existe un proceso probado para la obtención de concentrados y aislados proteicos de soja a partir de expeller. Por lo tanto, el trabajo de esta tesis propone un desarrollo novedoso en cuanto a encontrar un procedimiento experimental para la obtención de un producto de amplio interés comercial, utilizando materias primas no explotadas y que a su vez son producidas por empresas PyMEs de la región. De esta forma, no solo se presentará una innovación en procesos productivos, sino que también, se busca dar ayuda a productores regionales. Finalmente, se evaluará la calidad del producto obtenido bajo distintas condiciones de operación. A continuación, se detallarán los procesos más relevantes encontrados en patentes tecnológicas y publicaciones académicas. Por lo tanto, el objetivo de este capítulo es relevar los métodos convencionales y alternativos que utilizan flakes en lugar de harina como materia prima, dado que por no haber sufrido tostado es el producto que más se asemeja a los expellers. Posteriormente, comparar los procesos tradicionales de producción de concentrados y aislados de soja entre sí y proponer un procedimiento experimental para implementar a escala laboratorio. Por último, evaluar la calidad del producto obtenido y clasificarlo como concentrado o aislado.

3.2 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS PARA OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE SOJA

Al producir concentrados proteicos de soja, el objetivo es insolubilizar las proteínas mientras se lixivia en contracorriente los compuestos solubles. Estos productos son producidos por tres procedimientos básicos aplicados a las harina o flakes de soja: extracción con alcohol etílico o metílico acuoso del 20 al 80 %, lixiviación acida y desnaturalización de las proteínas con vapor y extracción con agua. El proceso

preponderante es el proceso de extracción acuoso porque el proceso genera un producto con menos sabores (Deak et al., 2008).

3.2.1. Método de extracción con alcohol acuoso

Este proceso se basa en la habilidad de la solución acuosa de alcoholes para extraer la fracción de azúcares solubles de los flakes o harinas desgrasadas sin solubilizar las proteínas. Las etapas del proceso son: a) extracción sólido líquido con una solución hidroalcohólica al 60 %, b) remoción y recuperación del solvente presente en el extracto líquido y en los flakes extraídos, y c) secado y molido de los flakes (FAO, 1992).

Konwinsky (1992) proponen realizar una aglomeración de los flakes en la etapa previa a la extracción acuosa para incluir aquellas partículas finas que se desechan a lo largo del proceso. Otra de las patentes encontradas fue la de Chajuss (2011) que propone realizar una variación al método tradicional agregando la etapa de extracción con alcohol acuoso a continuación de la extracción con solvente. De modo, que se elimine la etapa de tostado y la desolventización sea conjunta.

3.2.2. Método de lixiviación ácida

El método se basa en la relación existente entre el pH y la solubilidad de las proteínas. En este caso, se aplica de manera directa a la harina de soja una solución ácida como solvente hasta alcanzar la región de isoelectrica, donde se precipitan e insolubilizan la mayoría de las proteínas y se extraen los azúcares solubles en dicha solución (FAO, 1992).

En un proceso de lixiviación ácida típico se utiliza una relación sólido-líquido de 1:10 a 1:20 de ácido clorhídrico para ajustar el pH a 4,5, de 30 a 40 minutos de extracción a una temperatura de 40 °C. Se utiliza un decantador con centrifuga para separar el extracto líquido y concentrar los sólidos a aproximadamente un 20 %. Se puede realizar más de un ciclo de lixiviación y, además, se puede neutralizar la fracción sólida con hidróxido de sodio o calcio a pH 6,8 antes de aplicar un secado spray (Deak et al., 2008).

3.2.3. Método de lixiviación con vapor

En este proceso las proteínas de los flakes o harina de soja primero son insolubilizadas por desnaturalización térmica utilizando vapor. Luego, se realiza una extracción con agua caliente, que disuelve los azúcares. Este proceso es poco utilizado, debido a que los concentrados proteicos obtenidos tienen una aplicación comercial limitada (Deak et al., 2008).

3.3 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS PARA LA OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE SOJA

3.3.1. Método convencional (precipitación isoelectrica)

El proceso de obtención de concentrados y aislados proteicos se realiza mediante la sucesión de dos operaciones. En la primera etapa, las proteínas son solubilizadas para ser separadas del resto de los compuestos no solubles, principalmente glúcidos insolubles. A pesar de que la mayor parte de las proteínas de la soja son solubles a pH próximos a la neutralidad, es recomendable realizar la extracción a pH alcalino para favorecer la solubilización de las proteínas desnaturalizadas en los procesos previos (Baudi Dergal, 2013; Vioque et al., 2001). El residuo insoluble es separado del extracto obtenido, que contiene proteínas y el resto de los componentes solubles, por centrifugación (Liu, 1997).

La segunda etapa, tiene por objeto la concentración y purificación de las proteínas frente a otros compuestos (Vioque et al., 2001). El método tradicional de producción de aislados proteicos de soja en la industria es el llamado proceso de precipitación isoelectrica y propone disminuir el pH del extracto obtenido anteriormente hasta el punto isoelectrico de la proteína (pH en el rango de 4), en el cual precipita, y, luego, es separado de los componentes no proteicos solubles remanentes. La proteína precipitada es separada por decantación mecánica o centrifugación, lavada y neutralizada a pH 7 previo a ser secada, en última instancia, en un secadero spray. El producto resultante es una proteína de soja

en forma de proteinato altamente purificada. De acuerdo con el compuesto básico utilizado para la neutralización se producen proteinatos de sodio, potasio, amonio o calcio. Los tres primeros son altamente solubles en agua, produciendo soluciones con una alta viscosidad, espuma, emulsificación y propiedades de formación de gel. El proteinato de calcio tiene una baja solubilidad. Los aislados proteicos de soja con baja solubilidad son utilizados en formulaciones que requieren la incorporación de una alta cantidad de proteínas sin viscosidad excesiva ni otras contribuciones funcionales (FAO, 1992). Alternativamente, el precipitado final puede ser lavado y secado sin neutralización para dar aislados de soja en forma isoeléctrica (Liu, 1997). Es relevante resaltar que los aislados contienen ciertos compuestos de bajo peso molecular como saponinas, fosfolípidos, isoflavonas y algunos glucósidos (Baudi Dergal, 2013). Este método representa el proceso más usado comercialmente para la elaboración de aislado proteico de soja desde 1930 (Sunley, 1995).

Ciertas patentes y publicaciones proponen algún tipo de variación del método convencional. Russin, Arcand, & Boyle (2007), estudiaron el efecto del tamaño de partícula en la extracción de aislado proteico de soja, concluyendo que el impacto del tamaño de partícula no es significativo respecto de la pureza y, si bien, las partículas de menor tamaño presentan un mayor rendimiento de recuperación, se dificulta su manejo. La patente presentada por Cho, Shen & Mooshegian, (2008) agrega una etapa de hidrolisis enzimática posterior a la precipitación isoeléctrica que permite aumentar la resistencia a la acidez, lo cual permite incorporar los aislados proteicos de soja a las formulaciones ácidas. López de Ogara et al. (1992), evaluó como son afectadas las propiedades funcionales de los aislados proteicos de soja mediante tratamientos térmicos durante la precipitación isoeléctrica.

3.3.2. Métodos Alternativos

A lo largo de los años, se han desarrollado varios métodos alternativos a la tradicional precipitación isoeléctrica para producir aislados proteicos de soja a partir de un extracto

proteico. Entre los más difundidos se encuentra un proceso de separación por filtración y un proceso para la extracción de la proteína de soja y la concentración usando la llamada tecnología de gel hinchado (Sunley, 1995). En el primer caso, la ultrafiltración es usada para retener o permear proteínas acorde con el tamaño molecular y la osmosis inversa para concentrar los permeados después de la ultrafiltración (Liu, 1997). Para el caso del gel hinchado, un gel de polímeros reticulado sólido de poliacrilamidas N-sustituto y copolímeros de N-sustituto es agregado al extracto de proteínas con la finalidad de concentrar las proteínas de la solución, separándolas del resto de los compuestos solubles en agua. Por último, se aumenta la temperatura hasta 37°C para separar el concentrado proteico del gel hinchado (Johnson, Cussler & Trank, 1989).

Entre los métodos de extracción de proteínas, se ha estudiado la extracción acuosa y el efecto de extracción de proteínas en presencia de sales, especialmente de cloruro de calcio (Londhe et al., 2011; Maltais et al., 2005). En el proceso de extracción acuosa se parte de poroto de soja seco molido como materia prima y agua con peróxido de hidrógeno (para inactivar la lipoxigenasa) a 60°C y pH 9 durante la extracción. Luego, se centrifuga el compuesto acuoso y se obtienen tres fases; la solución proteica, la emulsión de aceite y la fibra residual. Se rompe la emulsión para recuperar el aceite y precipitar con ácido la fase acuosa para obtener proteínas. El nivel de aceite residual en las proteínas secadas por spray fue de casi 8-10% (Liu, 1997). En cambio, un proceso de extracción con sales para producir aislados proteicos de soja utiliza sales a fuerzas iónicas de 0,3 – 0,6 M, pH 5 – 6, y 15 – 25°C. El extracto obtenido es concentrado por ultrafiltración y diluido en su fuerza iónica a menos de 0,2 M para producir micelas proteicas que pueden ser separadas y secadas (Liu, 1997). Otro de los métodos de extracción de proteína de soja estudiados ha sido la aplicación de ultrasonido (Moulton & Wang, 1982; Bishnu Karki, 2009).

Otros métodos de concentración de proteína de soja se basan en la separación de cuerpos proteicos intactos, debido a que los cuerpos proteicos pueden ser separados de otros componentes celulares mediante molienda fina y flotación de densidad. Además, se pueden utilizar alcoholes polihídricos, cloruro de sodio, sacarosa, y sales de metales

alcalinos de ácidos orgánicos para obtener densidades de 1,2 – 1,5 g/ml, requeridas para separar los cuerpos proteicos. Una vez separados, deben ser lavados con alcohol para obtener un contenido proteico mayor al 80% (Liu, 1997). Sin embargo, el uso práctico de estos métodos ha sido limitado debido a desventajas prácticas y económicas.

Por último, también se han relevado estudios donde se aplican diferentes tratamientos, durante la producción de aislados proteicos o sobre los mismos una vez obtenidos, a fin de mejorar las propiedades funcionales y fisicoquímicas para aplicaciones alimenticias específicas. Entre dichos tratamientos se encuentran los efectos de tratamientos a altas presiones (Wang et al., 2007), de reducción y calentamiento simultaneo (Remondetto, González & Añón, 2002), de mezclados vigorosos (He et al., 2013). Lopes Barbosa et al. (2005), Baker & Rackis (1986), Nikolova, Nedeva & Tyankova (2000) han estudiado la influencia de las condiciones de operación con la presencia de isoflavona e inhibidores de tripsina.

3.4 COMPARACIÓN ENTRE PROCESOS

La principal diferencia entre los procesos de producción de concentrados y los de aislados, es el número de etapas necesarias para lograr un grado de pureza proteica final. El costo de producción de aislados es superior, consecuentemente su precio final es de 2 a 3 veces superior.

En el caso del proceso de precipitación isoelectrica su función básicamente es concentrar las proteínas tanto al ser aplicado para concentrados como para aislados. La diferencia entre ambos es que la producción de aislados posee la etapa de extracción previa a la concentración, lo cual permite aumentar significativamente el porcentaje de proteínas en el producto final.

Es deseable por razones tanto científicas como comerciales comparar sistemáticamente los diferentes procesos de extracción y concentración de proteínas para producir aislados proteicos de soja. Según Sunley (1995) la performance de cada proceso puede ser juzgada en términos de:

- eficiencia de separación de proteínas del resto de los compuestos no proteicos, expresada por el porcentaje de proteína en base seca del producto final.
- rendimientos de sólidos y proteínas obtenidos en la etapa de separación, teniendo en cuenta que la extracción inicial y final de las etapas de secado son comunes para todos los procesos.

Si consideramos que partimos de la misma materia prima sometida a la etapa de extracción de proteínas bajo similares condiciones de operación, al comparar los diferentes métodos de la segunda etapa de concentración de proteínas durante la producción de aislados proteicos de soja observamos que:

- el proceso de ultrafiltración muestra una significativa ventaja sobre el proceso isoeléctrico en todos los aspectos; su rendimiento es superior y sus desvíos estándares son menores (Sunley, 1995). Sin embargo, este método es más costoso y presenta inconvenientes por ensuciamiento de las membranas, por lo cual es necesario realizar osmosis inversa (Liu, 1997).
- el proceso de gel hinchado es desfavorable comparado con ambos procesos, ultrafiltración e isoeléctrico, en términos de rendimiento (Sunley, 1995). A pesar de ello, Johnson et al. (1989) enumera varias ventajas del aislado proteico obtenido por el método de gel hinchado frente al producto final obtenido por precipitación isoeléctrica. Entre ellas se encuentran:
 - ✓ Presencia de albuminas y otras proteínas solubles en ácido, que normalmente son pérdidas en el suero durante el proceso de precipitación ácida. Estas proteínas no precipitadas representan un 10% de las proteínas dispersadas presentes en el extracto inicial del proceso.
 - ✓ Menor contenido de fitatos.
 - ✓ Menor desarrollo microbiano, dado que trabaja a bajas temperaturas.
 - ✓ Reutilización de los geles utilizados, disminuyendo los costos de proceso con el tiempo.

Tabla 3.2. Comparación de productos secados por spray y rendimientos de sus muestras a partir de procesos de precipitación isoelectrica, ultrafiltración y gel hinchado (Sunley, 1995)

		Precipitación isoelectrica	Ultrafiltración	Gel hinchado
Producto terminado	% Sólidos	77,4 ± 0,6	83,8 ± 1,4	Sólo producción de producto líquido
	% Proteínas	91,1 ± 1,4	95,9 ± 0,7	
	% Proteínas (bs)	84,9 ± 1,4	87,3 ± 1,1	81,0 ± 0,8
Rendimiento	% Proteínas	52,9 ± 1,8	55,8 ± 0,8	27,1 ± 6,0
	% Sólidos	81,7 ± 2,6	37,2 ± 1,0	37,2 ± 8,6

El resto de los métodos alternativos detallados anteriormente han resultado inviables para la producción a escala industrial, presentando un uso limitado a escala laboratorio o para aplicaciones específicas.

Finalmente, tanto la bibliografía como la práctica concluyen que el método más sencillo y viable para la producción de aislado proteico de soja es la precipitación isoelectrica.

Al comparar los procesos de producción de concentrados proteicos de soja, el método comercial más difundido es el de extracción con alcohol acuoso debido a que la mayoría de las plantas industriales que lo aplican cuentan con la tecnología de desolventización. A pesar de obtener buenos resultados, este método tiene la desventaja de utilizar solventes altamente inflamables. Por el contrario, los otros procesos descritos utilizan agua como solvente. En el caso del proceso de lixiviación con vapor, se produce una desnaturalización de las proteínas que limita su posterior uso convencional.

CAPÍTULO IV:

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 INTRODUCCIÓN

4.1.1 Hipótesis de trabajo

En esta tesis, se propone una metodología a partir de la cual se pretende alcanzar un producto proteico de soja apto para consumo humano a partir de expeller. De modo que este producto sea novedoso y agregue valor a dicho subproducto de la extracción de aceite, que actualmente se destina en su totalidad a alimentación animal. En el capítulo anterior, se han expuesto los procesos utilizados para la producción de productos proteicos de soja que utilizan harinas o flakes de soja como materia prima inicial. En este caso, el método convencional de obtención de aislados proteico, producido a partir de flakes de soja, será aplicado a escala de laboratorio sobre el expeller. De manera que se

pueda evaluar su comportamiento y la posibilidad de alcanzar un producto proteico semejante a los concentrados y aislados de soja tradicionales.

Las diferencias de composición nutricional entre ambos subproductos; expeller y flakes, presentan desventajas del expeller frente a las harinas y flakes a la hora de aplicar estos métodos de extracción y concentración. En principio, estas diferencias se deben al porcentaje de aceite residual presente en las materias primas, siendo del 1 % en harinas y flakes en contraste con 6 % del expeller. Además, en cuanto al contenido proteico, las harinas con bajo contenido graso según el Artículo 1407 del Código Alimentario Argentino, poseen un contenido proteico del 45 % como mínimo. El expeller considerado en la tesis posee un contenido proteico del 43,2 %, siendo 45 % el valor promedio de los expellers que se producen en las plantas de Extrusado-prensado que mantienen sus productos estandarizados. Por lo tanto, alcanzar un producto proteico partiendo de expeller, con porcentaje final de proteínas similar a los concentrados o aislados tradicionales, resulta un desafío.

Frente a la situación adversa planteada, se propone aplicar el proceso convencional de producción de aislados proteicos de soja al expeller, es decir, la aplicación sucesiva de dos extracciones alcalinas de proteínas de soja con su posterior precipitación isoeléctrica y secado mediante liofilización. De esta forma, se pretende alcanzar un producto proteico con un porcentaje que alcance el 90% requerido para aislados o superior al 65% requerido para concentrados.

4.1.2 Descripción de los fenómenos de transporte del proceso

Extracción sólido-líquido

El objetivo de esta operación es eliminar las impurezas indeseables de la materia prima inicial por disolución en un disolvente apropiado de un componente o grupo de componentes insolubles. En este caso, se pretende extraer el mayor porcentaje de

proteínas solubles del expeller mediante una solución alcalina. La transferencia de materia tiene lugar en el sentido sólido-líquido y no se considera el caso inverso, ni aquellos en que intervienen en forma preponderante las fuerzas superficiales. Tampoco se consideran las reacciones químicas durante la operación (Vian Ortuño & Ocon García, 1979).

Los tres fenómenos tienen lugar desde que se inicia el contacto con el disolvente hasta que se alcanza el equilibrio:

1. *cambio de fase del soluto*. La disolución o cambio de fase tiene lugar por inmediato contacto de este con el disolvente. Existe una interfase sólido-líquido en la que se produce la disolución.
2. *Difusión del soluto en el disolvente contenido en los poros del sólido*. La migración del soluto hacia las zonas exteriores, menos concentradas, se producen por difusión. Este proceso se ve favorecido cuando el sólido se encuentre en forma de partículas pequeñas y de tamaño uniforme.
3. *Paso del soluto desde la superficie de los sólidos a la masa de la disolución*. Este tránsito tiene lugar por difusión y por convección o movimiento de la masa líquida. La velocidad de la extracción queda determinada por el fenómeno de difusión en los poros. El empleo de agitadores mejora la velocidad general de la extracción.

Estos fenómenos se ven favorecidos por la alta solubilidad de las proteínas en el agua, la cual depende de numerosos parámetros. Entre ellos, la solubilidad depende fundamentalmente del pH, fuerza iónica, tipo de disolvente y temperatura. El comportamiento de las proteínas de la soja indican que la solubilidad y, por consiguiente, la proporción de extracción es superior a pH alcalinos (Cheftel et al., 1989).

Precipitación isoeléctrica

Para valores de pH próximos al punto isoeléctrico (pI), las moléculas proteicas que manifiestan un mínimo de interacciones con el agua y sus cargas netas, que son lo bastante débiles para que puedan aproximarse las cadenas polipeptídicas, forman agregados que conducen a la precipitación. La gran cantidad de precipitado aumenta

cuando la densidad de los agregados difiere mucho de la del disolvente y es grande el diámetro de los nuevos agregados (Cheftel et. al, 1989).

4.2 CONSIDERACIONES PREVIAS AL DISEÑO DE EXPERIMENTO

4.2.1 Materia prima

Como ya ha sido mencionado anteriormente, la materia prima considerada en este estudio es expeller, que es el subproducto obtenido de la extracción de aceite de soja por el método de extrusado y prensado, el cual presenta una composición diferente a la harina de soja. Este producto, por tratarse de un producto relativamente nuevo y destinado principalmente a piensos, aún no posee sus parámetros de composición definidos en el Código Alimentario Argentino. Además, se caracteriza por tener una composición no estandarizada, es decir, que varía a lo largo del tiempo o entre diferentes plantas procesadoras. Sin embargo, algunas empresas, que destinan su producción a piensos para animales monogástricos (porcinos y aves), son más estables debido a las exigencias nutricionales que presentan dichos consumidores. Es por ello, que en los últimos años tanto en INTA como INTI se han realizado varios ensayos y análisis interlaboratorio de muestras de expeller de empresas PyMEs de Extrusado y prensado. Los resultados definieron una clasificación de las plantas procesadoras en función de la performance de las mismas. Para este estudio, se consideraron los resultados obtenidos de estudios previos realizados por INTA de aquellas plantas procesadoras que poseen sus procesos bajo control, obtienen un producto estable y destinan su producción a alimentación aviar, que asemeja sus exigencias a las de la alimentación humana. Dichos resultados brindaron los valores promedio de la composición de expeller de soja que se presentan en la Tabla 4.1 y que fueron seleccionados como materia prima.

Tabla 4.1. Composición nutricional del expeller de soja

Parámetros	Valores (%)
Humedad	5,98
Proteínas	45
Materia grasa	6,2
Fibra cruda	7,4
Cenizas	6,86

Nuevamente, debido a la falta de definición del producto en el Código Alimentario Argentino, se consideran los criterios de calidad especificados en el Artículo 1407 – (Res 126, 29.1.80) del capítulo XIX para la harina de soja, definidos en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Parámetros de calidad de harina de soja definidos en el artículo 1407 del Código Alimentario Argentino (ANMAT, 2010).

Calidad	Parámetro	Valores de referencia	
Valor nutritivo	Lisina disponible	mín 5g/16g N	
	PER (Relación Eficiencia Proteínica)	mín 2,0	
	UPN (Utilización Proteínica Neta)	mín 60,0	
Inocuidad	Actividad ureásica (AOCS. BA. 9-58)	máx 0,30	
	Recuento bacteriano total	máx 20.000/g	
	Termofílicas (Est. Am.Nat.Ass.)	máx 1.500/g	
	Esporas	máx 10/10/g	
	Levaduras y Mohos	máx 50/g	
	Coliformes	Negativo	
	Agentes patógenos entéricos	Aflatoxinas	inferior a 0,03 µg/g
		Clostridium perfringens,	máx 100/g
		Paracolons,	negativo/50/g
		Salmonella,	negativo/50/g
	Staphylococcus,	negativo/g	
	Streptococcus faecalis,	negativo/g	

Durante el relevamiento realizado por el INTA y citado anteriormente, fueron evaluados los parámetros más relevantes de calidad, como actividad ureásica y aflatoxinas, cuyos

resultados han sido 0,035 unidades de inhibidores de tripsina (TIU) por gramo y $< 1,7$ aflatoxinas totales ppb, respectivamente. Ambos valores inferiores a los límites máximos establecidos indican aptitud para el consumo humano.

4.2.2 Diseño de experimento

El procedimiento general de producción de aislados proteicos de soja propone una doble extracción alcalina, seguida de una precipitación isoelectrica. Las condiciones de operación para este proceso, como ya se ha mencionado, aún no han sido estudiadas para este subproducto, por lo tanto, se consideraron condiciones estándar para la primera etapa de extracción de proteínas solubles, establecidas por López de Ogara et al. (1992) y Sunley (1995), las cuales se disponen en la Tabla 4.3, y se desarrolló un diseño de experimento para la etapa de precipitación isoelectrica.

Tabla 4.3. Condiciones de la etapa de extracción.

Condiciones de extracción	Valores
Relación sólido:líquido	1:10
pH	8
Tiempo	30 minutos
Temperatura	60 °C

Para el diseño de experimento de la etapa de precipitación isoelectrica, en primera instancia, se planteó el número de variables a evaluar y sus respectivos niveles. Estos datos definieron el número de ensayos mínimos a considerar para desarrollar el modelo. Se consideraron las siguientes variables y niveles, presentadas en la Tabla 4.4.

Posteriormente, se adoptó un diseño de Box-Behnken dado que este tipo de diseño se aplica cuando se evalúan tres o más factores o variables independientes del proceso de precipitación, y cada factor será estudiado en tres niveles, lo cual es coincidente con el número de factores y niveles considerados en el experimento; temperatura, tiempo y pH.

Tabla 4.4. Factores y niveles considerados en el diseño.

Factores			
Niveles	T (°C)	t (min)	pH
	50	15	3,5
	60	30	4
	70	45	4,5

Este tipo de diseño permite la estimación de un modelo cuadrático completo incluyendo interacciones que se forman combinando dos de los factores con diseño de bloques incompletos balanceados. Se conoce como diseño incompleto porque en cada bloque se prueba solo una parte de los tratamientos, y balanceados porque cada par de tratamientos se prueba el mismo número de veces (Siqueiros Tarazón, 2004). Además, en su construcción los puntos de prueba no son extremos, es decir que no se consideran los puntos (1, 1, 1) y (-1, -1, -1) del hipotético cubo, lo cual es una gran ventaja cuando la realización de esos puntos es muy cara o requieren condiciones físicas complejas, porque se encuentran lejos del centro (Gutierrez Pulido & de la Vara Salazar, 2008). Por el contrario, siempre al menos uno de sus factores se ubica en su nivel medio, que es regularmente la zona estándar de trabajo. Este diseño de puntos sobre la superficie, de igual distancia al punto central, consiste en localizar los puntos medios de las aristas y el punto central del espacio procesado, como indica la Figura 4.1. Los puntos se generan seleccionando dos factores y perturbando en forma completa sus niveles. Esta estrategia se repite para todos los pares de valores posibles (Siqueiros Tarazón, 2004). Por lo tanto, estos puntos centrales sirven para examinar la presencia de curvatura, dar información acerca de los efectos cuadráticos y proporcionar una estimación de la magnitud del error experimental. Estas características lo define como un diseño rotatable o casi rotatable (Gutierrez Pulido & de la Vara Salazar, 2008).

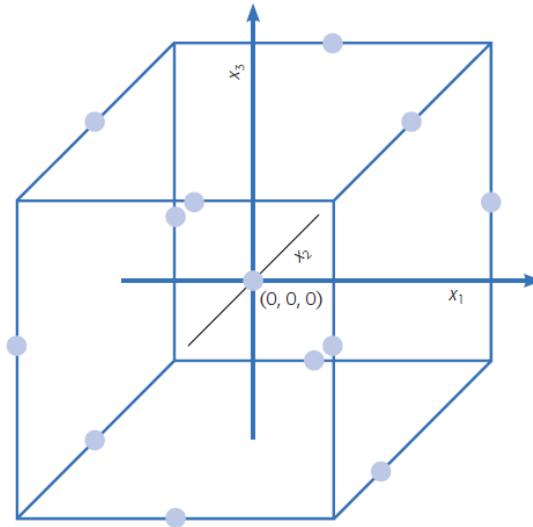


Figura 4.1 Representación del diseño de Box-Behnken

En la Tabla 4.5 se muestran los 15 tratamientos del diseño Box-Behnken para los tres factores principales del proceso de precipitación isoelectrica.

Tabla 4.5 Matriz del Diseño de Box-Behnken para tres factores

Tratamientos	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	0	-1	-1
6	0	1	-1
7	0	-1	1
8	0	1	1
9	-1	0	-1
10	1	0	-1
11	-1	0	1
12	1	0	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

El objetivo de este estudio es ejecutar el diseño experimental y generar modelos de superficie de respuestas que permitan encontrar la calidad, composición y rendimiento

óptimo de producto proteico final a partir de expeller, maximizando el contenido de proteínas y minimizando el contenido de lípidos.

Dentro de las consideraciones previas al diseño, se plantea:

- iniciar el proceso con una fracción proteica inferior y una lipídica superior a la harina o flakes de soja, debido a las características composicionales del subproducto a utilizar como materia prima.
- utilizar el método de precipitación isoelectrica, dadas las características del expeller se considera que es el método más adecuado y conveniente para alcanzar el objetivo final.
- El punto central del diseño Box-Behnken es coincide con los valores óptimos expuestos por Sunley (1995) para la producción de aislados proteicos de soja por precipitación isoelectrica utilizando harina de soja con bajo contenido graso como materia prima.

A partir del diseño de Box Behnken generado, en la Tabla 4.6 se definen los valores del diseño experimental para realizar los ensayos.

Tabla 4.6. Ensayos del diseño de experimento.

Nº Ensayo	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	pH
1	50	15	4,0
2	70	15	4,0
3	50	45	4,0
4	70	45	4,0
5	50	30	3,5
6	70	30	3,5
7	50	30	4,5
8	70	30	4,5
9	60	15	3,5
10	60	45	3,5
11	60	15	4,5
12	60	45	4,5
13	60	30	4,0
14	60	30	4,0
15	60	30	4,0

4.3. DIAGRAMA DE BLOQUE DEL PROCESO

La Figura 4.2, presenta un diagrama general del proceso completo, en el cual intervienen todas las operaciones involucradas; dos extracciones proteicas con solución alcalina y la precipitación isoeléctrica, con sus respectivas centrifugaciones, y el secado final por liofilización. Dicho diagrama de flujo refleja el procedimiento tal cual fue llevado a cabo en el laboratorio, con todas sus corrientes de entrada, salida y operaciones.

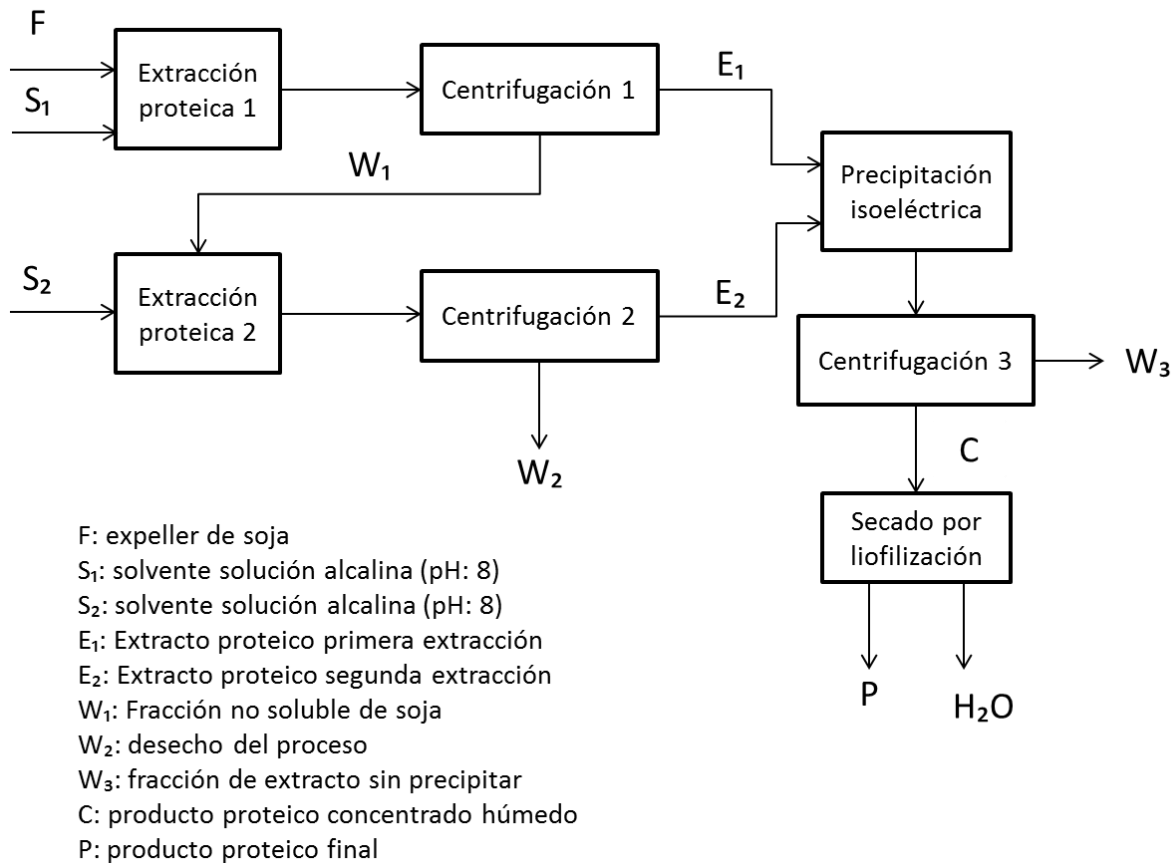


Figura 4.2 Diagrama de flujo del proceso desarrollado

4.4. METODOLOGÍA UTILIZADA

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones de INTI Agroalimentos, en el área de subproductos, coordinado por la Lic. M. Cristina López de Ogara. A continuación se presentan los quipos de laboratorio utilizados, Figura 4.3, junto con el procedimiento

detallado, el cual se presenta en el diagrama de flujo de la Figura 4.4. Por último en la Figura 4.5 se presentan los distintos productos obtenidos luego de cada operación.

EQUIPOS UTILIZADOS



Molino de laboratorio
(Fbr by Decalab)



Tamiz (malla 1 mm)



Baño termostático
(Thermomix 1480) y
agitador (Preeytec).



Balanza de precisión
(Precisa XT 4200)



Peachímetro
(Meter Toledo)



Centrifuga de
laboratorio (Martin
Christ Osterode/Hartz)



Liofilizador de
laboratorio (L-I-
E300-CRT, Rificor)

Figura 4.3. Equipos utilizados durante la experiencia de laboratorio.

Preparación de la muestra

La materia prima utilizada fue expeller de soja, con un contenido proteico del 43,2 % y un contenido residual de aceite de 6 %. La preparación de la muestra incluyó la molienda del mismo con un molino de laboratorio (Fbr by Decalab) y posterior tamizado en malla de 1 mm, lo cual equivale a 16 mesh.

Extracción alcalina

La extracción alcalina se dividió en dos etapas, en las cuales se utilizó una relación sólido:líquido de 1:10, la cual es ampliamente utilizada en la bibliografía citada por Sunley (1995). El resto de los parámetros de operación considerados, responden a los valores estándares planteados por Sunley (1995) y López Ogara et al. (1992); pH igual a 8, temperatura de 60°C, agitación a una velocidad de 70 rpm durante 30 minutos. La muestra fue pesada en una balanza de precisión (Precisa XT 4200) y mezclada con agua destilada como solvente. Luego, se llevó la mezcla a pH 8 utilizando una solución de hidróxido de sodio 4 M medida en el peachímetro (Meter Toledo). La etapa de extracción se realizó a 60 °C durante 30 minutos en un baño termostatzado (Thermomix 1480) con agitación constante a 70 rpm por un agitador (Precytec). Consecutivamente, se centrifugó la mezcla durante 30 minutos a 2500 rpm en una centrifuga de laboratorio (Martin Christ Osterode/Hartz), obteniendo como resultado una fase sólida y otra líquida. Por último, se separaron y pesaron cada una de las fracciones. El extracto líquido fue reservado para su posterior precipitación y el sólido se utilizó como material inicial para la segunda extracción.

En la segunda etapa de extracción, fueron considerados los mismos parámetros de operación que se utilizaron en la primera etapa, así como también se mantuvieron sus respectivos valores.

Por último, al finalizar las extracciones se separaron y pesaron cada una de las fracciones obtenidas. Los extractos líquidos obtenidos se juntaron en un recipiente y la fracción sólida fue desechada.

Precipitación isoeléctrica

Para realizar esta etapa de precipitación de las proteínas solubles en el extracto obtenido anteriormente se siguió con el diseño de experimento planteado, tomando para cada uno de los ensayos una alícuota de 700 ml de extracto y solución de ácido clorhídrico 2 N para ajustar el pH en su valor correspondiente manteniendo una agitación vigorosa durante 2

minutos. Luego, cada fracción se mantuvo en un baño termostático a temperatura y tiempo determinado previamente por el diseño de la Tabla 4.4. Se centrifugó cada precipitado durante 30 min a 2500 rpm y se separó el producto proteico concentrado húmedo de la fracción líquida.

Por último, se colocó este producto proteico concentrado húmedo obtenido en placas de Petri previamente pesadas y se mantuvieron las muestras a -10 °C de temperatura hasta la etapa de liofilización.

Secado

Para finalizar el proceso de producción de aislados proteicos de soja, se procedió a la etapa de secado mediante liofilización. El liofilizador de laboratorio utilizado (L-I-E300-CRT, Rificor) se operó bajo las condiciones: temperatura de estante de -35 °C y temperatura de condensador a -40 °C. Por último, se pesó cada una de las muestras del producto proteico final y se las reservó para sus posteriores determinaciones analíticas.

La liofilización es un procedimiento de secado cuyo principio es la sublimación del hielo de un producto congelado, por lo tanto el agua del producto pasa directamente del estado sólido al estado vapor (Mafart, 1994). El ciclo de secado se desarrolla en dos fases:

- Fase de sublimación, llamada deshidratación primaria, que elimina alrededor del 90 %, de modo que el producto queda con una humedad del 15 %.
- Fase de desorción o de desecación secundaria, que elimina el 10 % del agua ligada restante y que permite conseguir un producto de hasta 2 % de humedad.

Un ciclo completo de liofilización comienza por la fase de congelación, de modo que se forme una red cristalina que dé lugar a la formación de canales por los que el vapor de agua pueda escapar. La siguiente etapa consiste en eliminar el agua por secado lo que provoca la deshidratación del alimento. Para ello, es necesario generar vacío de modo que se trabaje a presiones inferiores a 4,58 Torr, dado que si la presión de vapor de agua se mantiene por debajo de 4,58 Torr y el agua se mantiene congelada, cuando el alimento se calienta el hielo se sublima directamente a vapor sin llegar a fundirse. El vapor de agua se

va eliminando de modo continuo, manteniendo la presión en el liofilizador por debajo de la presión de vapor en la superficie del hielo (mediante bomba de vacío) y condensando el vapor mediante un condensador de serpentín. A medida que la liofilización progresa, el frente de la sublimación se traslada hacia el interior del alimento y el calor latente para la sublimación se conduce hasta allí por conducción, o se genera en la masa del alimento por efecto de las microondas. El vapor de agua escapa del producto proteico a través de los canales formados por la sublimación del hielo. La última fase de la liofilización es la desorción, que se consigue manteniendo el liofilizador a baja presión y elevando la temperatura hasta un valor próximo a la del ambiente (Fellows, 2000).

Por último, al producto obtenido lo llamamos producto proteico final, dado que a priori no podemos definir su composición como para categorizarlo como concentrado o aislado. Es probable que su composición y propiedades difieran de las establecidas para los aislados proteicos de soja obtenidos a partir de harina de soja. En la Figura 4.5 se presentan cada uno de los productos obtenidos a lo largo del procedimiento.

ETAPAS DEL PROCESO

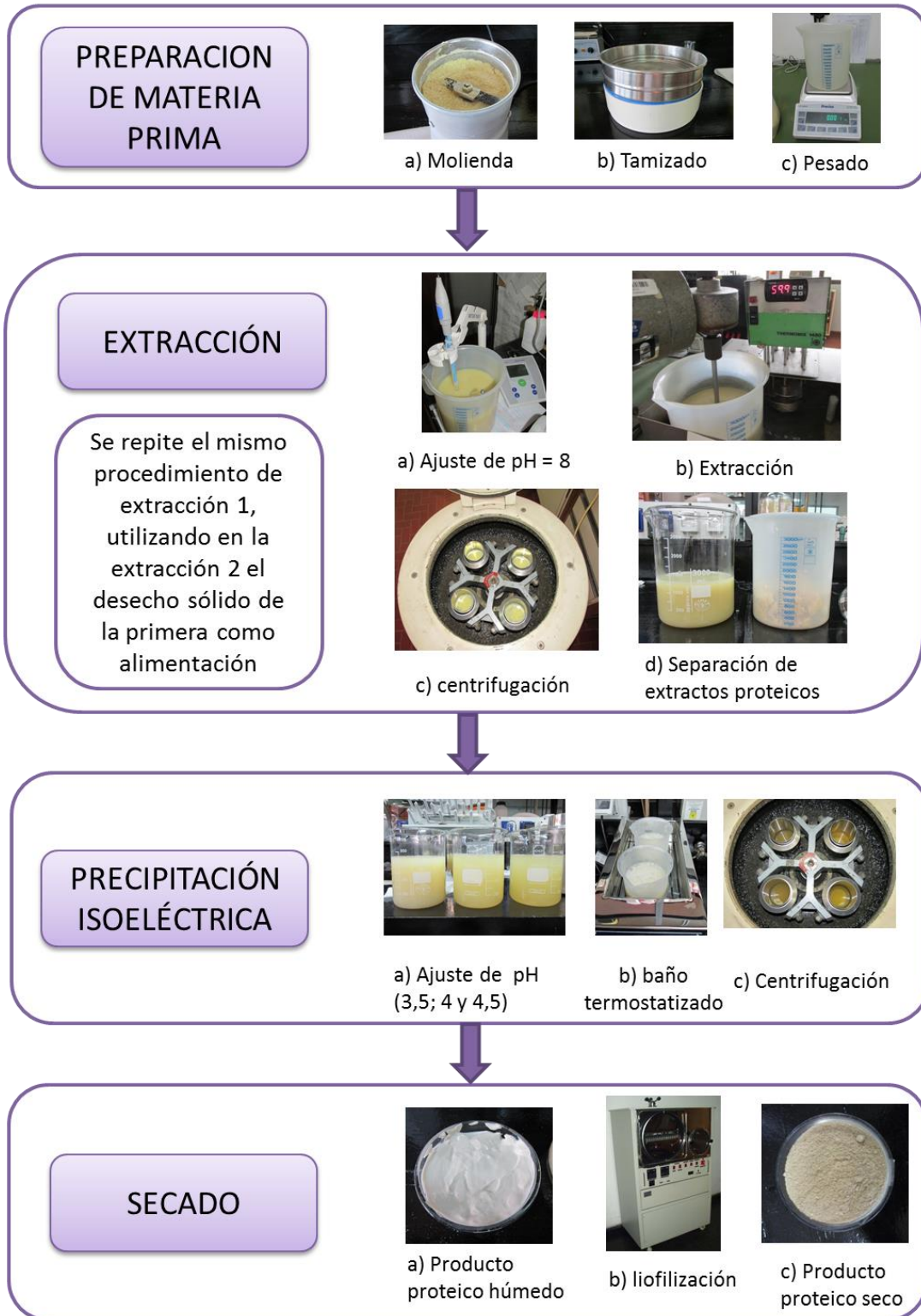


Figura 4.4. Diagrama de flujo de las etapas del proceso.

PRODUCTOS OBTENIDOS A LOS LARGO DEL PROCESO



a) Expeller de soja



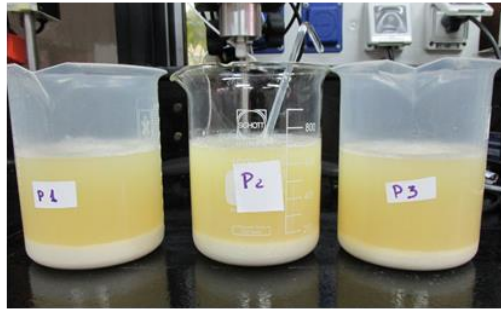
b) Extracto proteico y
desecho sólido



c) Extracto proteico



d) Extracto proteico
a pH isoelectrico



e) Precipitación de proteínas luego de
permanecer en baño termostatzado



f) Desecho líquido



g) Producto proteico
húmedo



h) Producto proteico
congelado



i) Producto proteico
liofilizado

Figura 4.5. Productos obtenidos a lo largo del proceso

4.5. DETERMINACIONES ANALITICAS

Las determinaciones analíticas consideradas para analizar los productos proteicos obtenidos concuerdan con las presentadas en la bibliografía para definir los parámetros de los aislados y concentrados. El Código Alimentario Argentino hace referencia a las determinaciones analíticas de humedad, materia grasa, proteínas, fibras totales y cenizas. Por lo tanto, se realizaron dichas determinaciones mediante las técnicas AOCS de referencia, las cuales serán descritas a continuación. Las determinaciones cenizas y fibras totales se calcularon por diferencia, dado que representan parámetros de menor relevancia en el estudio y solo fueron considerados para el balance de masa. Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

Determinación de proteínas

El contenido proteico fue realizado por el Método Oficial de AOCS Ba 4d-90, en el cual se determina como amonio el contenido total de nitrógeno y la proteína como 6,25 veces el contenido de nitrógeno de la muestra.

Para iniciar con el procedimiento, se pesaron 0,250 g de muestra en el frasco de Kjeldahl y se adicionó la mezcla catalizadora. Luego, se agregaron 25 ml de H₂SO₄ concentrado a la muestra y al catalizador en el frasco digestor y chips para la ebullición en el frasco de muestra. Se colocó el frasco en posición inclinada y se calentó durante 5 minutos hasta que comenzaron a desprenderse los vapores blancos, luego se calentó por 40 minutos más rotando el balón. Se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron cuidadosamente 250 ml de agua. Se transfirió la suficiente cantidad de ácido al frasco receptor de modo que al finalizar la destilación se encuentre con exceso de 0,5 ml de ácido 0,5 N. se agregaron al frasco digestor 1 g de gránulos de alundum, mezclando y agregando suficiente solución alcalina para hacer fuertemente alcalino el contenido del frasco. Inmediatamente se conectaron los frascos Kjeldahl digestor y destilador al condensador y se calentó durante 7 – 8 minutos, hasta obtener un destilado de 150 ml. Se tituló el

contenido del frasco receptor con solución 0,25 N de NaOH, usando como indicador rojo de metilo. Se realizó un blanco en forma paralela y simultánea.

Cálculos:

Nitrógeno %

$$= \frac{N \text{ ácido} * ml \text{ ácido usado en muestra} - ml \text{ base utilizada en blanco} * N \text{ base} - ml \text{ base usada en muestra} * N \text{ base} * 1400,67}{mg \text{ muestra}}$$

$$Proteínas \text{ totales } \% = Nitrógeno \% * 6,25$$

Determinación de materia grasa

El contenido de materia grasa se realizó por el Método Oficial AOCS Ba 3-38, mediante Soxhlet, en el que se determina la cantidad de materia grasa por extracción con éter de petróleo 5 gr de muestra, evaporación de éste y la determinación gravimétrica del aceite extraído.

El procedimiento detallado indica que de la muestra molida y tamizada, se pesan 5 gr en un papel de filtro. Luego, este se encierra nuevamente en un segundo papel de filtro que permanece abierto en el extremo superior formando un cilindro o canasta. En el extremo abierto se coloca una pieza de algodón absorbente. Se colocó la muestra en el tubo extractor y se colocaron 25 ml de éter en el frasco del extractor previamente tarado y se conectó con el resto del equipo. Se calentó sobre plato eléctrico hasta que el solvente evapore y condense por el centro del tubo. Se mantuvo la extracción por 6 horas, tras lo cual se enfrió y desconectó el frasco de extracción. Se evaporaron los restos de éter, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se secó y limpió el frasco y se pesó; se repitió dicha operación hasta alcanzar un peso constante. Se determinó el contenido de aceite mediante el siguiente cálculo:

$$Materia \text{ grasa } \% \text{ (extracto etéreo)} = \frac{\text{peso de aceite extraído} * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

Determinación materia seca (humedad y materia volátil)

De acuerdo al Método Oficial AOCS Ba 2a-38 se determinó el contenido de humedad presente en el producto y cualquier material que sea volátil en las condiciones del test. Por diferencia se obtiene materia seca.

Se tomaron muestras de 2 g de muestra y se colocaron en un plato tarado para determinación de humedad. Se colocó el disco en estufa y se secó a $130\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por dos horas. Se retiró de la estufa, se colocó en desecador hasta enfriarse a temperatura ambiente para luego ser pesado.

Cálculos:

$$\text{Humedad y materia volátil \%} = \frac{\text{peso perdido} * 100}{\text{peso inicial de la muestra}}$$

$$\text{Materia seca \%} = 100 - \text{Humedad y materia volátil \%}$$

4.5 RESPUESTAS A EVALUAR: COMPOSICIÓN Y RENDIMIENTOS

El objetivo del diseño de experimentos es optimizar la composición del producto proteico, es decir, maximizar las respuestas de contenido de proteínas, y minimizar el contenido de lípidos y humedad, y a su vez, buscar las condiciones experimentales que maximicen los rendimientos de las etapas del proceso.

Para realizar los cálculos de rendimiento se consideraron las etapas del proceso por separado: extracción y precipitación isoelectrica, y el rendimiento global del proceso.

Etapas de extracción

Este rendimiento indica que cantidad de las proteínas de la materia prima fueron extraídas durante las etapas de extracción alcalina sólido:líquido.

$$\% \text{proteínas extraídas} = \left(\frac{(\text{peso total de 2 extractos} * \% \text{ proteínas de extractos combinados})}{(\text{Peso de materia prima utilizada} * \% \text{ proteína de materia prima})} \right) * 100$$

$$\% \text{proteínas extraídas} = \left(\frac{(E1 + E2) * (xE2 + xE2)}{(F * xF)} \right) * 100$$

Etapa de precipitación isoelectrica

El rendimiento de la etapa de precipitación indica cual es la cantidad de proteínas presentes en el extracto fueron capaces de precipitar.

Rendimiento proteína (sólo proceso isoelectrico)

$$= \left(\frac{(\text{peso producto proteico concentrado húmedo} * \% \text{ proteína del aislado})}{(\text{Peso del extracto utilizado} * \% \text{ proteína del extracto})} \right) * 100$$

$$\text{Rendimiento proteína (sólo proceso isoelectrico)} = \left(\frac{(C * xc)}{(E1 * xE1) + (E2 * xE2)} \right) * 100$$

Este rendimiento se aplica para determinar la cantidad de proteínas de la materia prima inicial fueron precipitadas.

Rendimiento proteína (extracción/proceso isoelectrico)

$$= \left(\frac{(\text{peso producto proteico concentrado húmedo} * \% \text{ proteína del aislado})}{(\text{Peso de materia prima inicial utilizada} * \% \text{ proteína de mp inicial})} \right) * 100$$

$$\text{Rendimiento proteína (extracción/proceso isoelectrico)} = \left(\frac{(C * xp)}{(F * xF)} \right) * 100$$

Proceso general

El rendimiento general del proceso puede ser evaluado tanto para sólidos como para proteínas y determina la relación existente entre la cantidad total de proteínas/sólidos de la materia prima inicial y las presentes en el producto proteico final.

$$\text{Rendimiento sólidos} = \left(\frac{(\text{peso producto proteico final } \% \text{ sólidos aislado})}{(\text{Peso materia prima} * \% \text{ sólidos materia prima})} \right) * 100$$

$$\text{Rendimiento sólidos secos} = \left(\frac{(P * yp)}{(F * yF)} \right) * 100$$

$$\text{Rendimiento proteínas} = \left(\frac{(\text{peso producto proteico final} * \% \text{ proteína aislado})}{(\text{Peso alimentador materia prima} * \% \text{ proteína materia prima})} \right) * 100$$

$$\text{Rendimiento} = \left(\frac{(P * xp)}{(F * xF)} \right) * 100$$

CAPITULO V:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 RESULTADOS DEL ENSAYO

A partir de las determinaciones analíticas descritas en el capítulo anterior se establecieron las composiciones de los productos proteicos obtenidos para todos los ensayos del diseño de experimento de la Tabla 4.4, que fueron utilizados para obtener los ajustes de las superficies de respuesta. Las respuestas consideradas fueron:

- Contenido de proteínas total, humedad y lípidos del producto proteico de soja final.
- Rendimiento de extracción de proteínas de la etapa de precipitación isoeléctrica.
- Rendimiento de extracción de proteínas en el proceso general.
- Rendimiento de sólidos en el proceso general.
- Rendimiento de extracción de proteínas vs el contenido de sólidos.

Cada conjunto de datos fue procesado en los programas estadísticos Statgraphic y Minitab 7, en los cuales han sido ajustadas las superficies de respuesta con sus respectivas ecuaciones polinómicas. A partir de dichas superficies, se definieron, mediante diagramas de Pareto, cuáles de los factores evaluados son significativos en cada respuesta. Por último, se determinaron los valores óptimos correspondientes para cada superficie de respuesta. En el caso de contenidos proteicos y sus rendimientos, se busca maximizar las respuestas. Por el contrario, para contenidos lipídico y de humedad se persigue el objetivo de minimizar sus valores en el producto final.

Como las respuestas individuales, al maximizarlas o minimizarlas, derivan en valores óptimos con condiciones de operación (temperatura, tiempo y pH) diferentes, se procede entonces a evaluar la superficie de respuesta global. Es decir, aquella superficie donde todas las respuestas son optimizadas simultáneamente para obtener un único conjunto de condiciones de operación del proceso de precipitación isoelectrica denominado óptimo global.

5.1.1. Composición proteica del producto final

La Tabla 5.1 muestra los polinomios de segundo grado de regresión para el contenido de proteínas del producto proteico final evaluados en cada programa, cuyo valor óptimo máximo fue del 75 % de contenido proteico para las siguientes condiciones de operación: temperatura igual a 50 °C y pH 4,5 durante 45 minutos. Además, se encuentra representado el diagrama de Pareto en la Figura 5.1, de la cual se deduce que el efecto de Tiempo al cuadrado (t^2) fue significativo.

Tabla 5.1. Optimización de la superficie de respuesta de contenido proteico

Programa estadístico	Ecuación polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
Statgraphics	= 249,165 – 0,457875*T – 1,00953*t – 76,8083*pH + 0,00587917*T ² – 0,00781667*T*t – 0,046*T*pH + 0,0162796*t ² + 0,112667 *t *pH +	82,9146	Maximizar proteínas	74,5764	50	45	4,46

Minitab 7	$9,74167 \cdot \text{pH}^2$						
	$= 249 - 0,46 \cdot T - 1,010 \cdot t - 76,8 \cdot \text{pH} + 0,0059 T^2 + 0,01628 \cdot t^2 + 9,74 \cdot \text{pH}^2 - 0,00782 \cdot T \cdot t - 0,046 \cdot T \cdot \text{pH} + 0,113 \cdot t \cdot \text{pH}$	82,91	Maximizar proteínas	75,0154	50	45	4,5

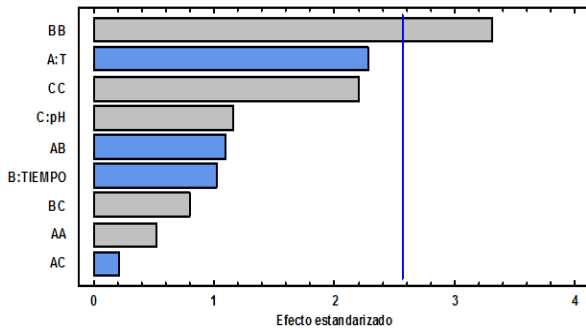


Figura 5.1. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de proteínas

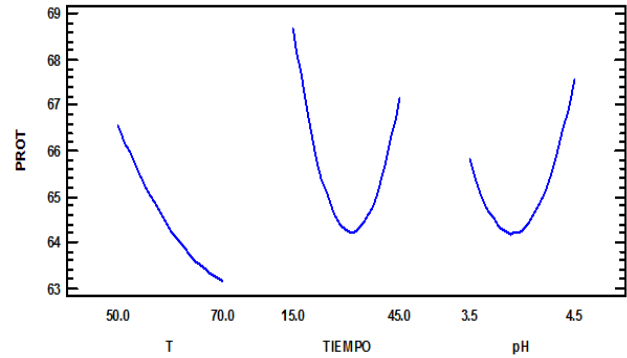


Figura 5.2 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de proteínas

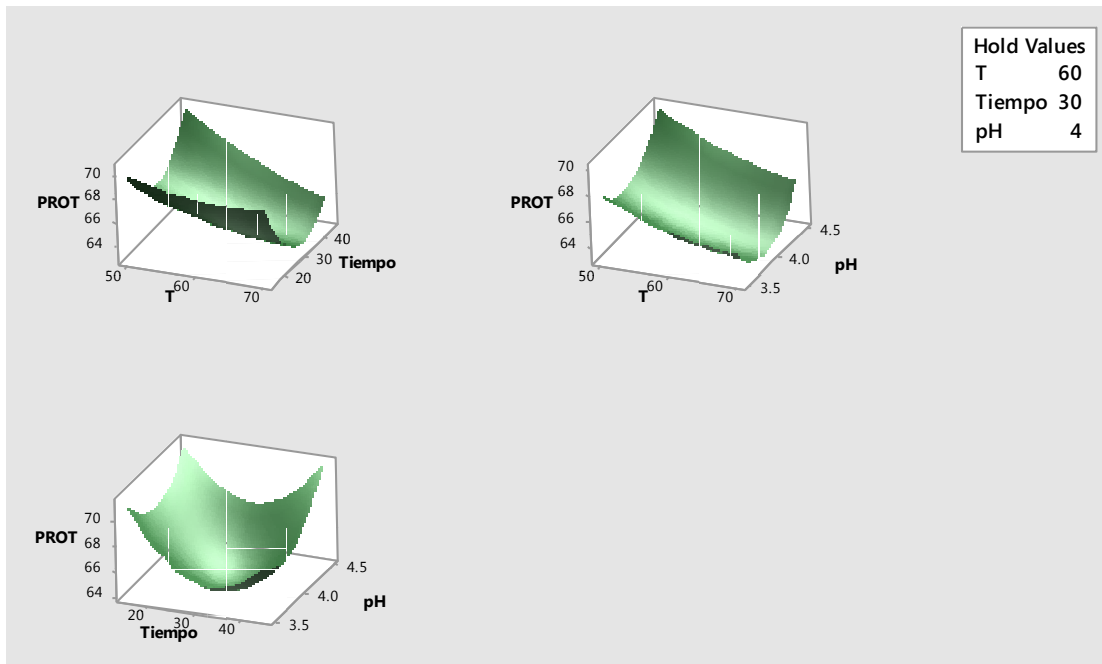


Figura 5.3. Superficies de respuesta de proteínas

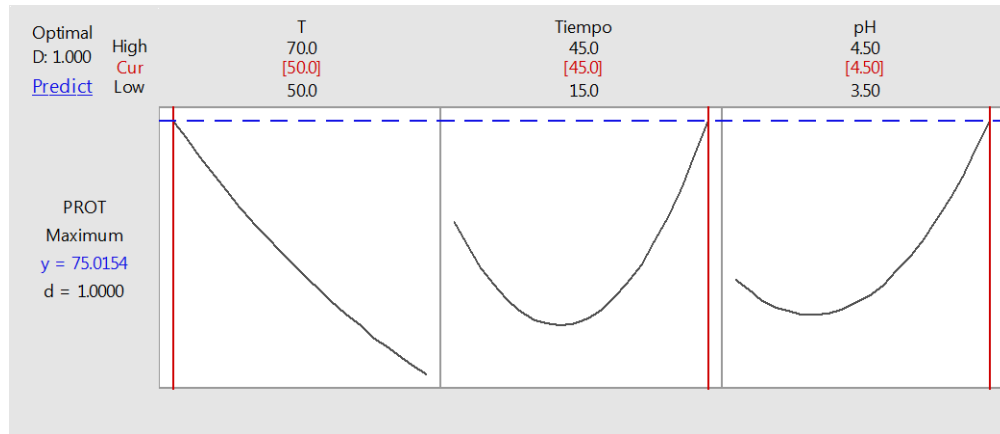


Figura 5.4. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el contenido de proteínas

5.1.2. Contenido de humedad del producto proteico final

Del mismo modo, se calculó el polinomio de regresión para el contenido de humedad en el producto proteico final en cada programa estadístico, las ecuaciones de regresión son mostradas en la Tabla 5.2. Durante la optimización de esta variable se busca minimizar su valor, siendo 7,7 % de humedad final el óptimo. Mediante la representación gráfica del diagrama de Pareto de los factores que componen la ecuación polinómica, Figura 5.5, se dedujo que el efecto de pH y pH al cuadrado (pH^2) fueron significativos. La influencia de dicho efecto también se ve reflejada en la Figura 5.6.

Tabla 5.2. Optimización de la superficie de respuesta del contenido de humedad

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= 30,35 - 0,01075 * T - 0,00283333 * t - 10,87 * pH + 0,0 * T^2 + 0,0 * T * t + 0,003 * T * pH + 0,0 * t^2 + 0,000666667 * t * pH + 1,3 * pH^2$	99,7609	Minimizar humedad	7,70883	50	44,9991	4,1114
MINITAB 7	$= 30,350 - 0,0108 * T - 0,00283 * t - 10,870 * pH + 0,000000 * T^2 + 0,0000 * t^2 + 1,300 * pH^2 + 0,0000 * T * t + 0,003 * T * pH + 0,00067 * t * Ph$	99,76	Minimizar humedad	7,7089	50	45	4,1162

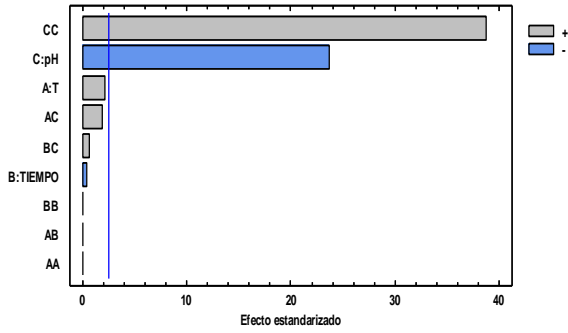


Figura 5.5. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de Humedad

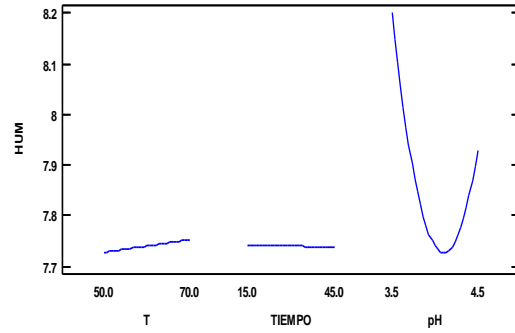


Figura 5.6. Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de humedad

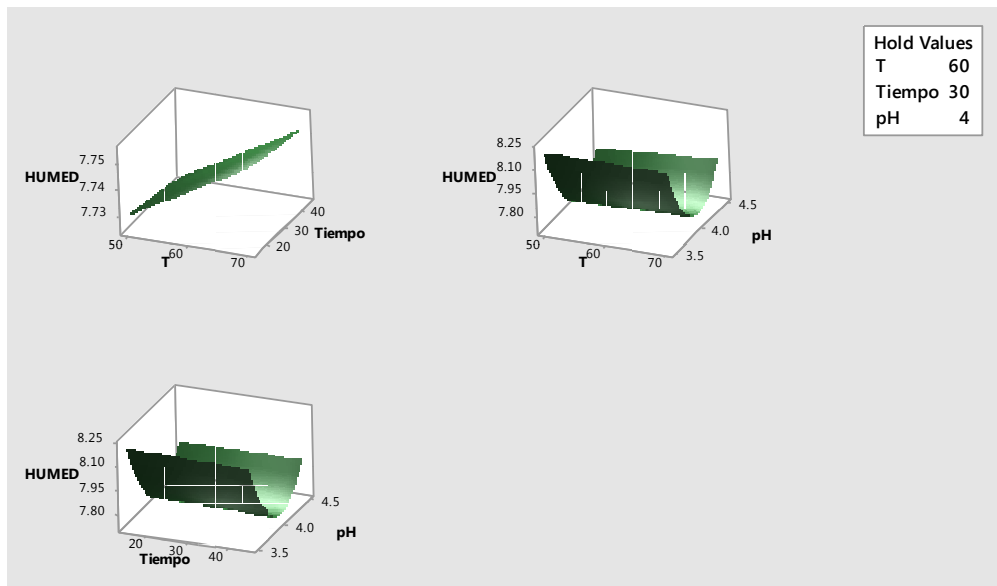


Figura 5.7. Superficies de respuesta de contenido de humedad

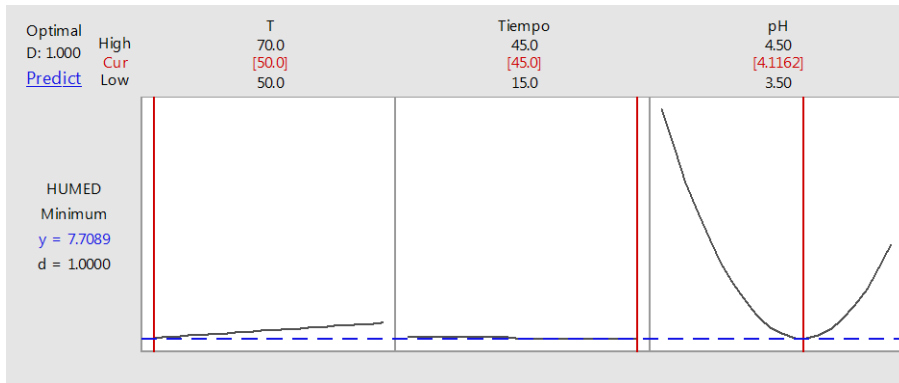


Figura 5.8. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el contenido de humedad

Podemos observar en la gráfica 5.8 que la respuesta óptima para el contenido mínimo de humedad se presenta cuando la temperatura es de 50 °C, el pH de 4,1162 a los 45 minutos.

5.1.3 Contenido de lípidos del producto proteico final

Al minimizar el contenido lipídico en el producto proteico final, las ecuaciones de regresión evaluadas en cada uno de los programas presentaron un valor óptimo de 11,2 % dispuesto en la Tabla 5.3 junto con las condiciones de operación para alcanzar dicho óptimo; temperatura de 50 °C, tiempo de 15 minutos y pH de 4,5. En la Figura 5.9 del diagrama de Pareto de los factores que componen la ecuación polinómica, se observa que el efecto de la temperatura, el tiempo, el tiempo al cuadrado (t^2) y pH fueron significativos, sin embargo, los más importantes fueron temperatura y t^2 . Estos últimos efectos fueron ratificados en la Figura 5.10.

Tabla 5.3. Optimización de la superficie de respuesta del contenido lipídico

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= -81,505 + 0,689*T + 0,883278*t + 31,4033*pH - 0,00827917*T^2 + 0,00515*T*t + 0,0965*T*pH - 0,0167907*t^2 - 0,023*t*pH - 4,73167*pH^2$	97,48	Minimizar lípidos	11,296	50	15,1033	4,49978
MINITAB 7	$= -81,5 + 0,689*T + 0,883*t + 31,4*pH - 0,00828 T^2 + 0,01679*t^2 - 4,73*pH^2 + 0,00515*T*t + 0,0965*T*pH - 0,0230*t*pH$	97,48	Minimizar lípidos	11,2396	50	15	4,5

El la Figura 5.12 vemos que las condiciones de operación tanto en la optimización de lípidos como proteínas son coincidente; temperatura igual 50 °C, en un tiempo de 45 minutos y a pH 4,5. Mientras que para el contenido de humedad, el mínimo se encuentra a la misma temperatura y tiempo, pero a un pH ligeramente menor.

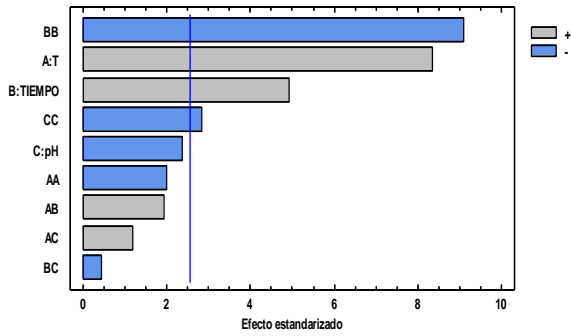


Figura 5.9. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de lípidos

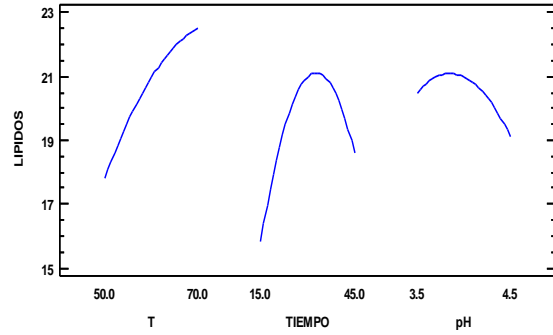


Figura 5.10. Efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al contenido de lípidos

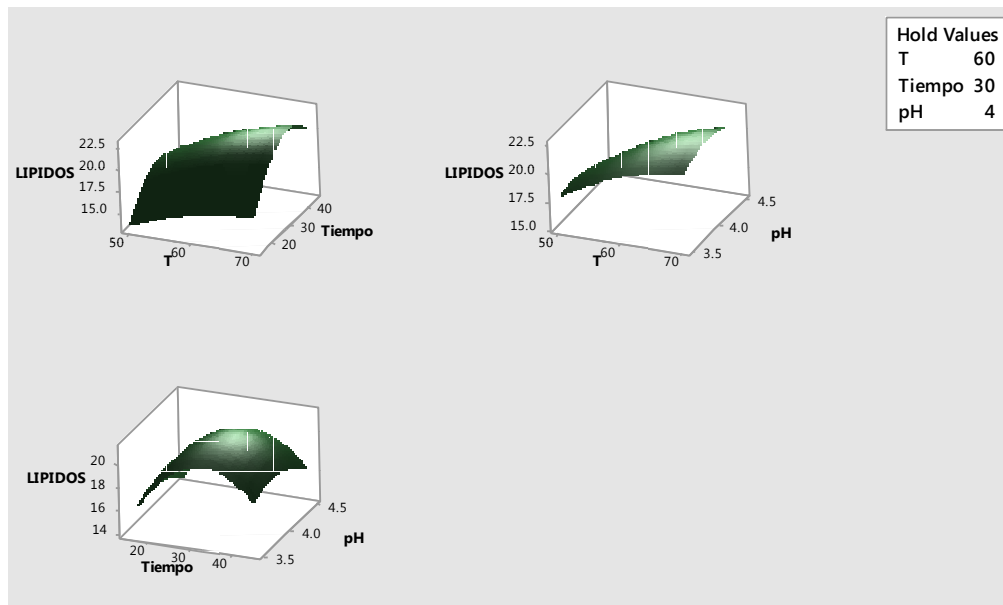


Figura 5.11. Superficies de respuesta de contenido de lípidos

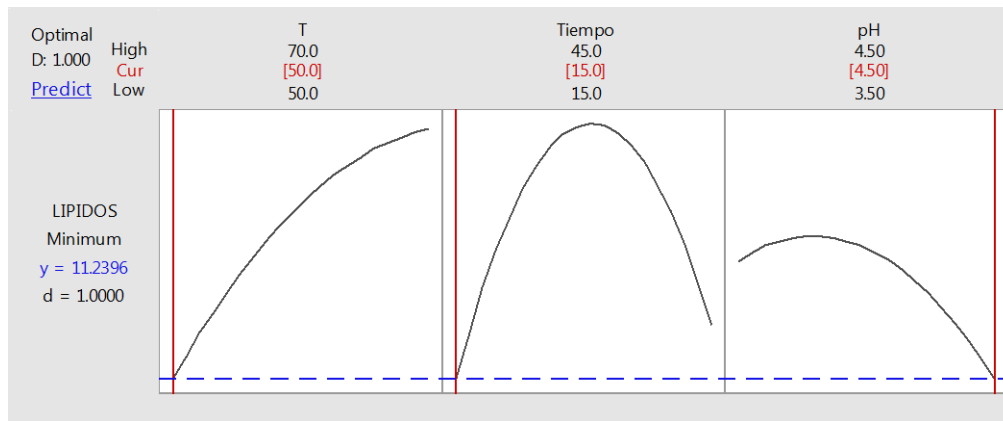


Figura 5.12. Efectos de factores y optimización individual para contenido de lípidos

5.1.4. Rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoelectrica

El rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoelectrica representa el porcentaje de las proteínas extraídas que fueron precipitadas al descender el pH hasta el rango isoelectrico (3,5 a 4,5). Al maximizar este rendimiento, las superficies de respuestas proponen un valor óptimo de 99 %. Dicho óptimo se alcanza bajo las condiciones: temperatura a 60 °C, tiempo a 15 minutos y pH a 3,5, como se puede observar en la Tabla 5.4. En la Figura 5.13 y 5.14 se observa que el efecto de la temperatura y el tiempo al cuadrado (t^2) fueron significativos.

Tabla 5.4. Optimización de la superficie de respuesta del rendimiento de proteínas en la precipitación isoelectrica

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= 924,005 + 9,40725 T - 2,18533 t - 522,465 pH - 0,039575 T^2 - 0,0603 T*t - 1,091 T*pH + 0,0923444 t^2 - 0,034 t*pH + 71,77*pH^2$	85,21	Maximizar el rendimiento de la etapa de precipitación de proteínas isoelectrica	99,384	59,1913	15	3,5
MINITAB 7	$=924 + 9,4*T - 2,19*t - 522*pH - 0,0396*T^2 + 0,0923W*t^2 + 71,8*pH^2 - 0,0603*T*t - 1,09*T*pH - 0,034*T*pH$	85,21	Maximizar el rendimiento de la etapa de precipitación de proteínas isoelectrica	99,00	60	15,1138	3,5

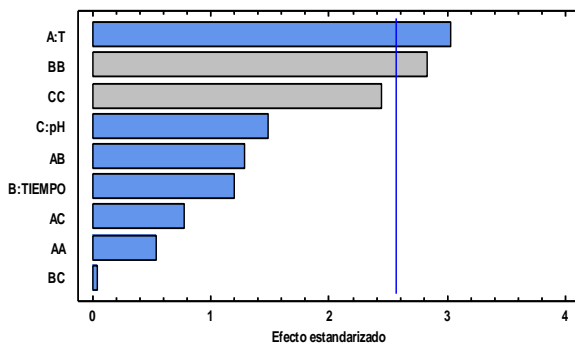


Figura 5.13. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de proteínas en la precipitación isoelectrica

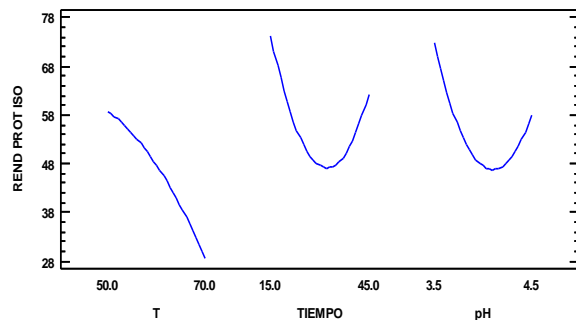


Figura 5.14. Efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento de proteínas en la precipitación isoelectrica

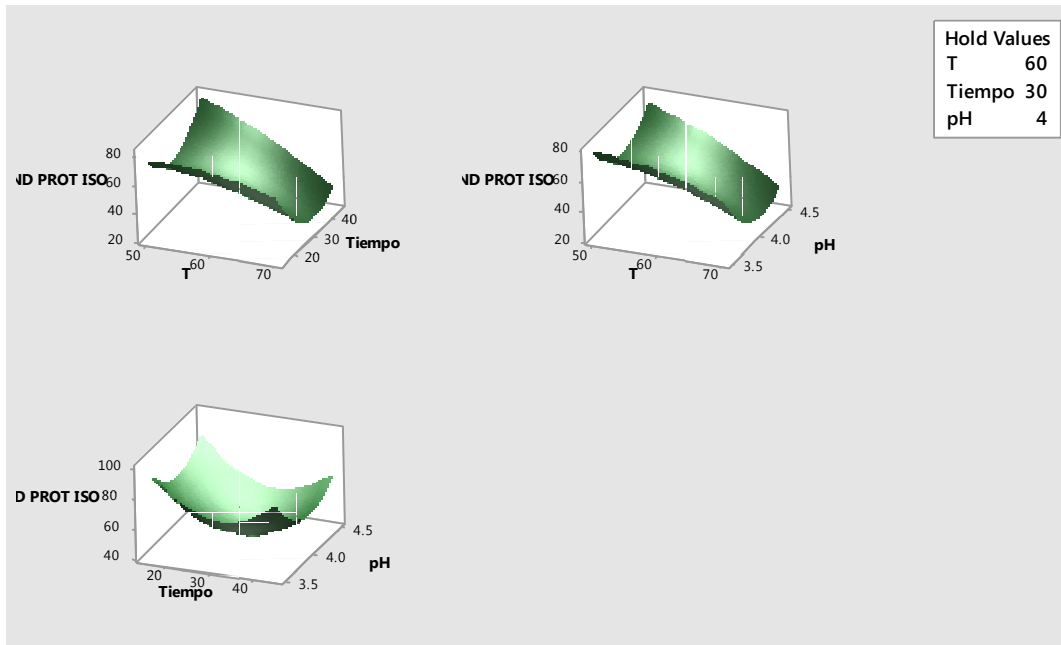


Figura 5.15. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas en la precipitación isoeléctrica

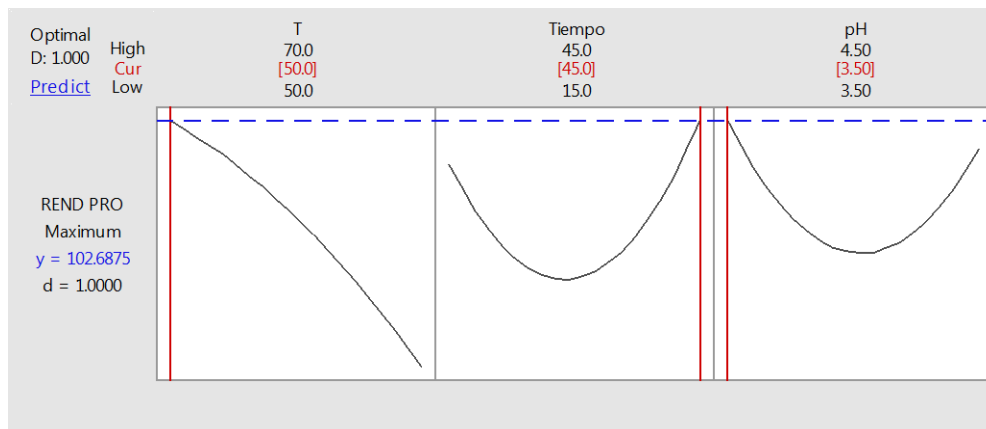


Figura 5.16. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoeléctrica

En la Figura 5.16 vemos que el rendimiento presenta un valor superior al 100 %, dado que dicho valor no es posible se debe recalcular la superficie de respuesta con la restricción de un límite máximo, el cual no debe superar el 100 %. Consecuentemente, en la Figura 5.17 se puede observar que el valor óptimo varía, del mismo modo que las condiciones de operación variando la temperatura de 50 °C a 60 °C y el tiempo de 45 a 15 minutos, por el contrario, el valor de pH durante la optimización se mantuvo constante.

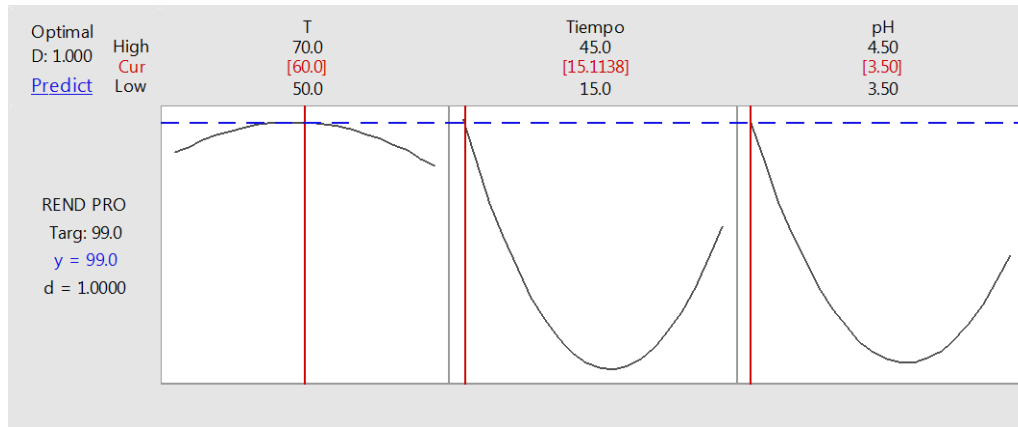


Figura 5.17. Efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento de proteínas en la etapa de precipitación isoeléctrica bajo la condición de target.

5.1.5. Rendimiento general de proteínas

El rendimiento general de proteínas indica el porcentaje total de proteínas de la materia prima inicial que están presentes en el producto final. Al maximizar este rendimiento, los polinomios de ajuste de las superficies de respuestas proponen un valor óptimo de 23,5 %. En este caso, cada programa propone diferentes condiciones de operación para alcanzar el óptimo, como se puede observar en la Tabla 5.5, ambos programas proponen una temperatura de 50 °C, sin embargo, Statgraphics propone un tiempo de 15 minutos y pH igual a 3,5 mientras Minitab 7 considera tiempo de 45 minutos y un pH de 4,5. En la Figura 5.18 y 5.19 se observa que el efecto de la temperatura, pH y el tiempo al cuadrado (t^2) fueron significativos.

Tabla 5.5. Optimización de la superficie de respuesta del rendimiento general de proteínas

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= 200,012 + 1,29525 * T - 0,707139 * t - 101,479 * pH - 0,00814167 * T^2 - 0,00908333 * T * t - 0,0935 * T * pH + 0,0165037 * t^2 + 0,052 * t * pH + 13.0933 * pH^2$	87,54	Maximizar rendimiento de proteínas del proceso general	22,3078	51,0819	15	3,5

MINITAB 7	$= 200 + 1,30 * T - 0,707 * t - 101,5 * \text{pH} - 0,0081 T^2 + 0,0165 * t^2 + 13,09 * \text{pH}^2 - 0,00908 T * t - 0,093 * T * \text{pH} + 0,052 * t * \text{pH}$	87,54	Maximizar rendimiento de proteínas del proceso general	23,5583	50	45	4,5
------------------	--	-------	--	---------	----	----	-----

A partir de los resultados presentes en la Tabla 5.5, se evaluaron ambas ecuaciones con los valores óptimos de respuesta de cada uno de los programas, como indica la Tabla 5.6. Los resultados indican que los valores óptimos para las dos ecuaciones tienen sus óptimos máximos al operar bajo las condiciones de 50 °C, 45 minutos y pH de 4,5. Por último, al comparar entre programas, se observa que el rendimiento más alto responde al polinomio propuesto por Minitab 7.

Tabla 5.6. Comparación de respuestas.

Programa estadístico	Función polinómica	50°C, 15 min, 3,5	50°C, 45 min, 4,5
STATGRAPHICS	$= 200,012 + 1,29525 * T - 0,707139 * t - 101,479 * \text{pH} - 0,00814167 * T^2 - 0,00908333 * T * t - 0,0935 * T * \text{pH} + 0,0165037 * t^2 + 0,052 * t * \text{pH} + 13,0933 * \text{pH}^2$	22,298	23,557895
MINITAB 7	$= 200 + 1,30 * T - 0,707 * t - 101,5 * \text{pH} - 0,0081 T^2 + 0,0165 * t^2 + 13,09 * \text{pH}^2 - 0,00908 T * t - 0,093 * T * \text{pH} + 0,052 * t * \text{pH}$	22,605	23,845

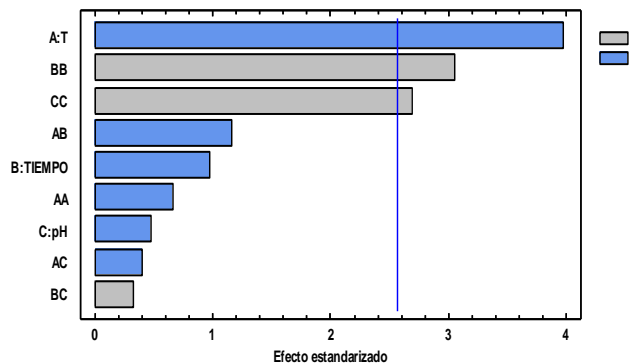


Figura 5.18. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento general de proteínas

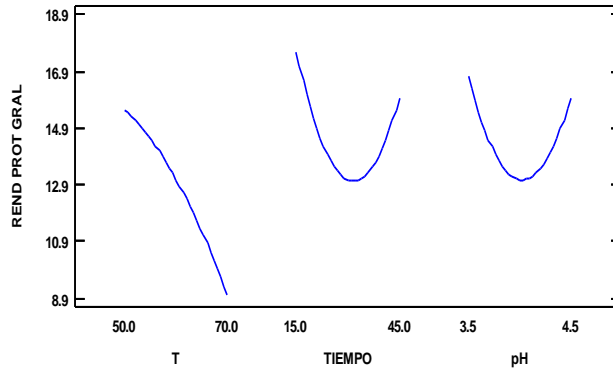


Figura 5.19 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento general de proteínas

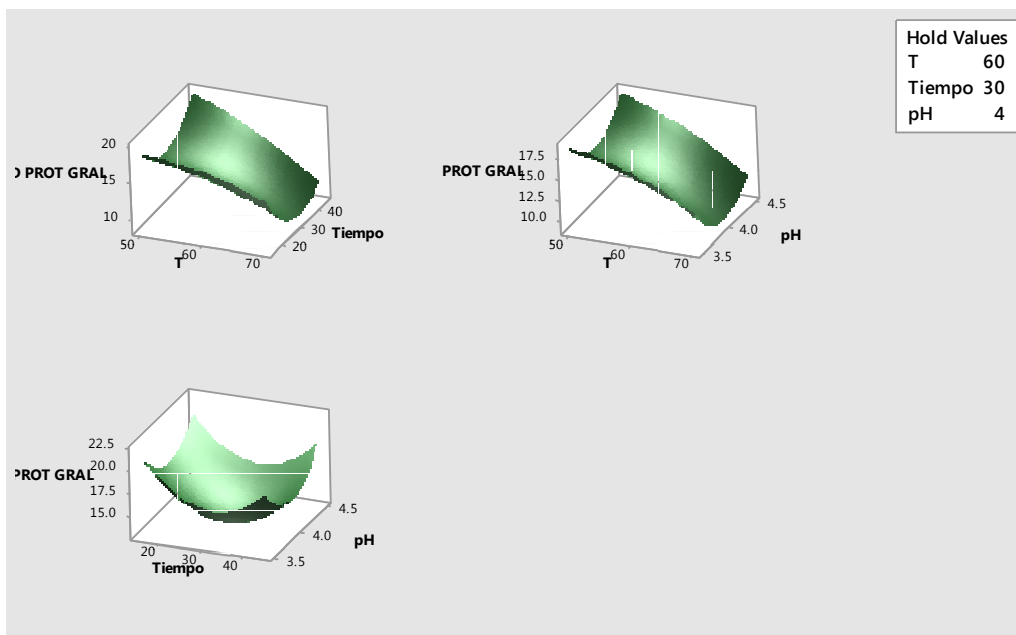


Figura 5.20. Superficies de respuesta del rendimiento general de proteínas

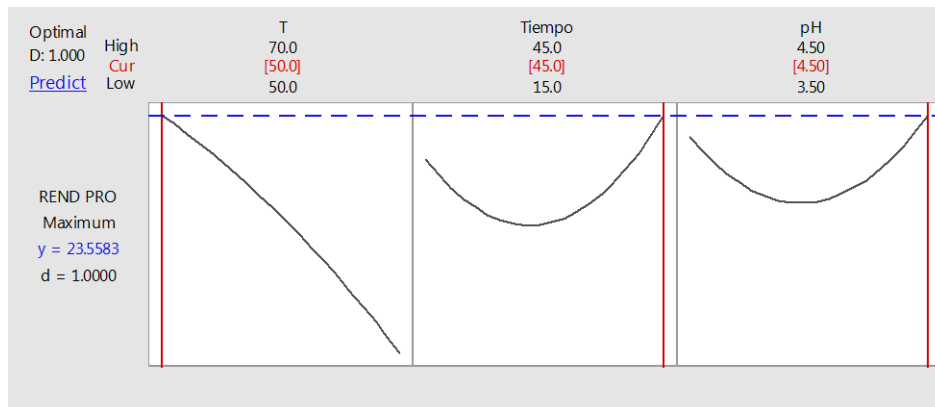


Figura 5.21. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de proteínas

5.1.6. Rendimiento de sólidos en el proceso general

El rendimiento general de sólidos indica cual es el porcentaje total de materia seca de la materia prima inicial que está presente en el producto final. Al maximizar este rendimiento, las superficies de respuestas proponen un valor óptimo de 13,9 %. En la Tabla 5.7, las condiciones de la optimización responden a una temperatura de 50 °C, un tiempo de 45 minutos y pH igual a 3,5. En la Figura 5.22 y 5.23 se observa que el efecto de la temperatura, pH y el tiempo al cuadrado (t^2) fueron significativos.

Tabla 5.7. Optimización de la superficie de respuesta del rendimiento general de sólidos

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= 94,705 + 0,893*T - 0,285722*t - 50,4367*pH - 0,00604167*T^2 - 0,00473333*T*t - 0,053*T*pH + 0,00829259*t^2 + 0,0113333*t*pH + 6,56333*pH^2$	88,3813	Maximizar rendimiento general de sólidos	13,8187	50,8675	45	3,5
MINITAB 7	$= 94,7 + 0,893*T - 0,286*t - 50,4*pH - 0,00604*T^2 + 0,00829*t^2 + 6,56*pH^2 - 0,00473*T*t - 0,053*T*pH + 0,0113*t*pH$	88,38	Maximizar rendimiento general de sólidos	13,9183	50	45	3,5

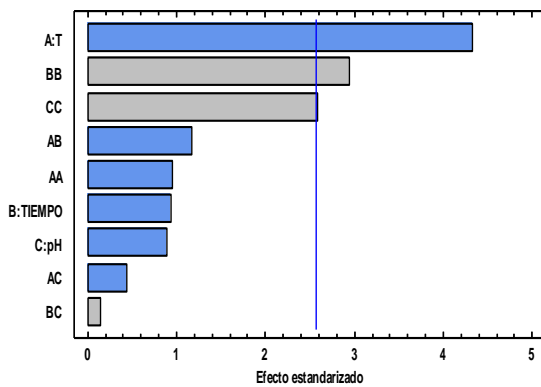


Figura 5.22. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento general de sólidos

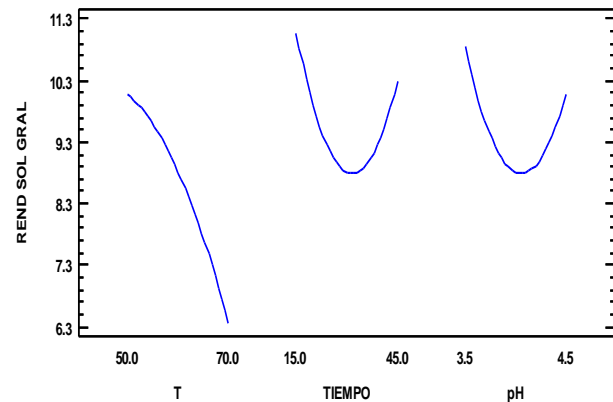


Figura 5.23. Efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento general de sólidos

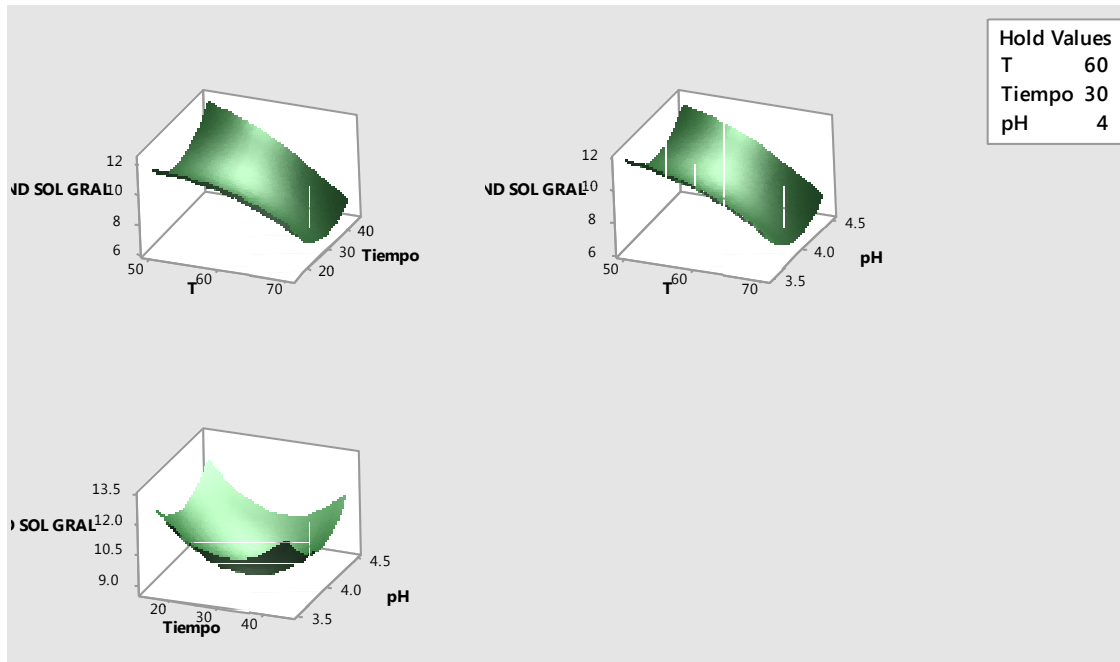


Figura 5.24. Superficies de respuesta del rendimiento general de sólidos

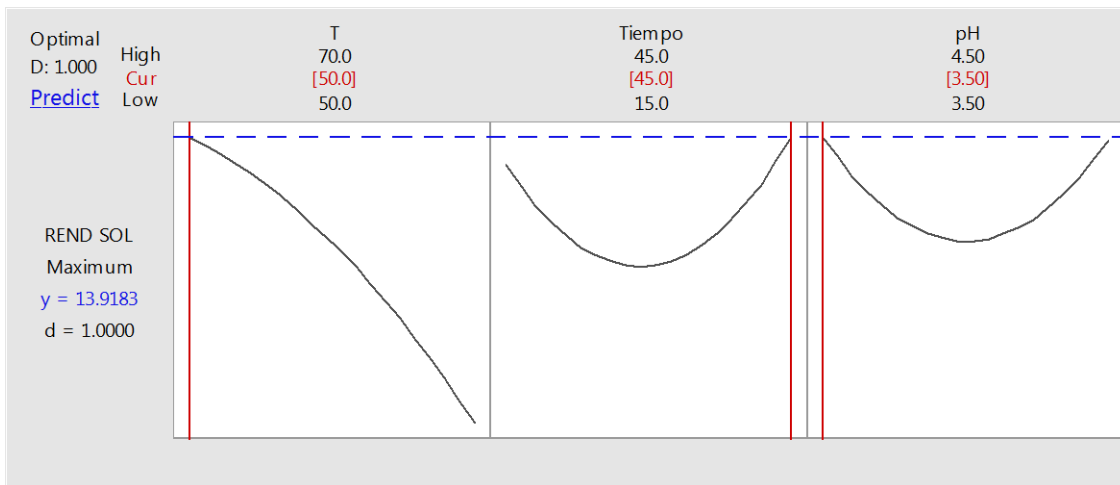


Figura 5.25. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de sólidos

5.1.7. Rendimiento de proteínas vs sólidos

Al comparar los rendimientos de proteínas con sólidos totales es posible conocer cuál es el porcentaje de proteínas que conforma a los sólidos totales en el producto proteico final, es decir, que la maximización de este rendimiento permite determinar el punto donde del total de sólidos obtenidos la mayor parte son proteínas. Al utilizar los polinomios de

ajuste, se propone un valor óptimo de 81 %. En la Tabla 5.8, las condiciones de operación de la optimización responden a una temperatura de 50 °C, un tiempo de 45 minutos y pH igual a 4,5. En la Figura 5.26 y 5.27, se observa que el efecto de tiempo al cuadrado (t^2) fue significativo.

Tabla 5.8. Optimización de las superficies de respuesta de la comparación de rendimiento general de proteínas vs sólidos

Programa estadístico	Función polinómica	R ² (%)	Meta	Valor óptimo	Temperatura óptima	Tiempo óptimo	pH óptimo
STATGRAPHICS	$= 288,262 - 0,500125*T - 1,09961*t - 92,0458*pH + 0,00631667*T^2 - 0,00848333*T*t - 0,047*T*pH + 0,0176852*t^2 + 0,123*t*pH + 11,6067*pH^2$	83,2556	Maximizar rendimiento proteínas vs sólidos	81,2646	50	44,6996	4,49987
MINITAB 7	$= 288 - 0,50*T - 1,100*t - 92,0*pH + 0,0063*T^2 + 0,01769*t^2 + 11,61*pH^2 - 0,00848*T*t - 0,047*T*pH + 0,123*t*pH$	83,26	Maximizar rendimiento proteínas vs sólidos	81,4517	50	45	4,5

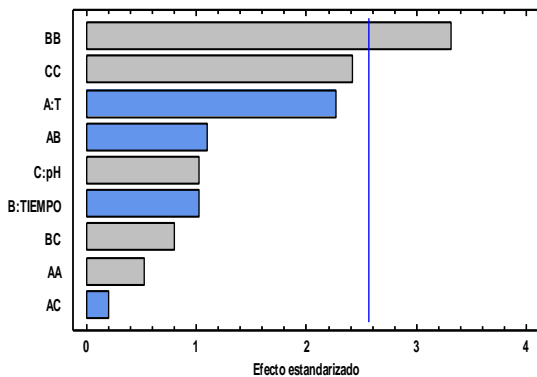


Figura 5.26. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de proteínas vs sólidos totales

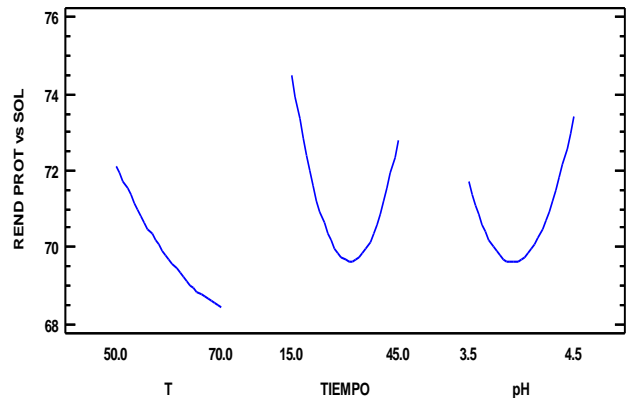


Figura 5.27 Gráfica de efectos principales para la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento de proteínas vs sólidos totales

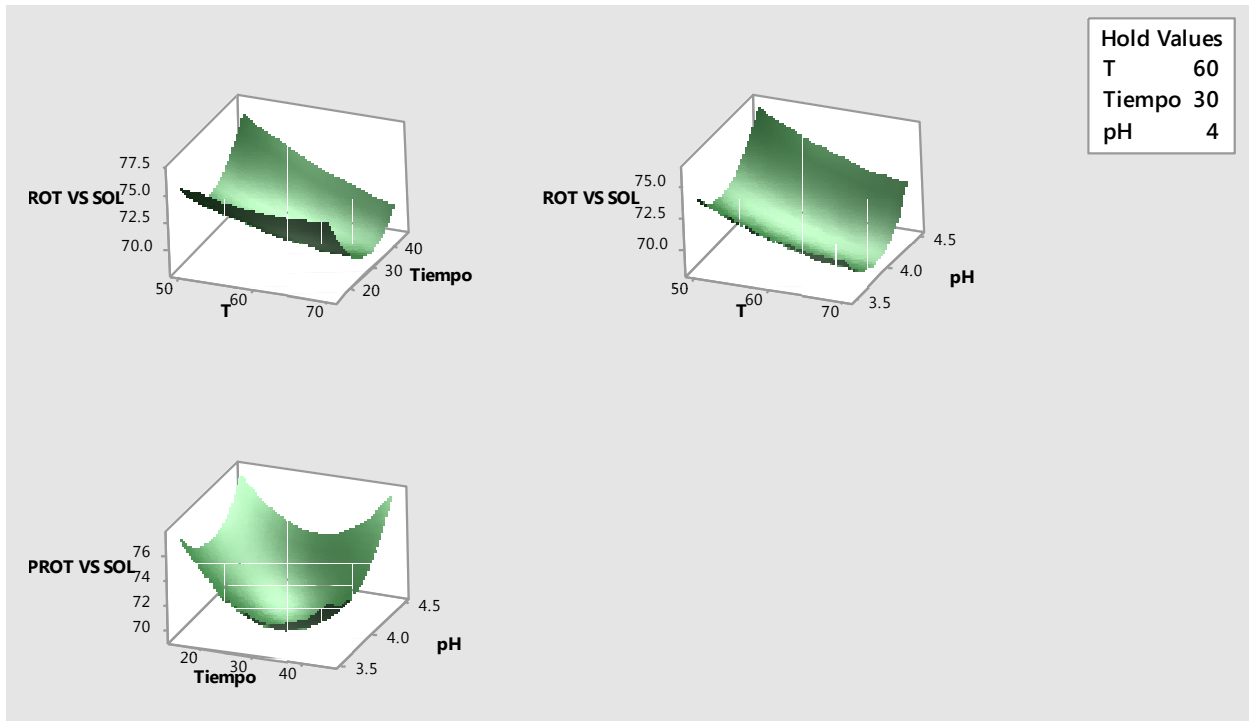


Figura 5.28. Superficies de respuesta del rendimiento de proteínas vs sólidos totales

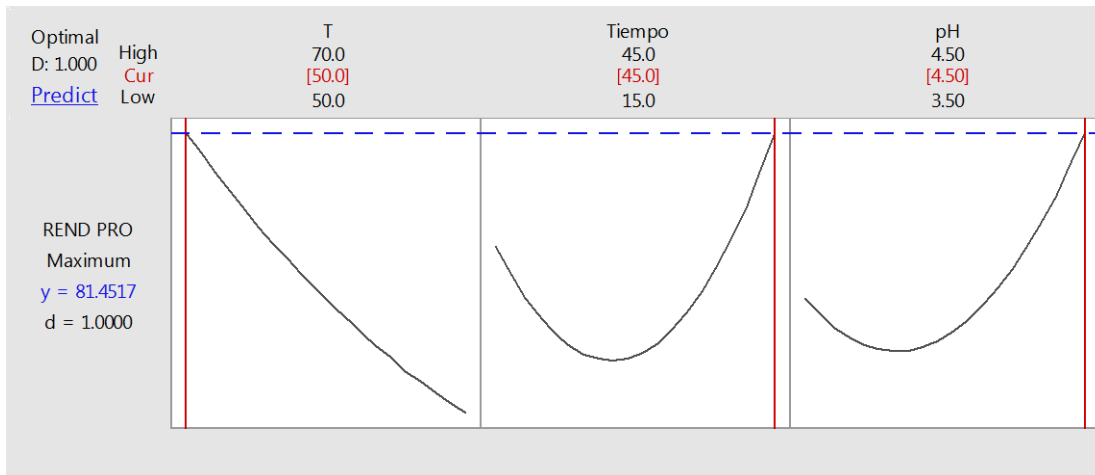


Figura 5.29. Gráficas de efectos de los factores y optimización individual para el rendimiento general de sólidos vs rendimiento general de proteínas

Al analizar los resultados de las optimizaciones individuales se concluye que:

- el efecto de los factores más significativo es el tiempo al cuadrado, dado que se presenta en seis de las siete respuestas, principalmente en aquellas respuestas relacionadas con proteínas. Sin embargo, el efecto de la temperatura y pH también

es significativo en cuatro de las siete respuestas, por el contrario, en respuestas relacionadas con el contenido de humedad, lípidos y rendimientos generales.

- Los valores de las condiciones de operación que se repiten con mayor frecuencia son: temperatura igual a 50°C, tiempo de 45 minutos y pH 4,5.

5.1.8. Optimización simultánea

Por último, se realizó una optimización simultánea de todas las variables expuestas previamente. En esta oportunidad, es de interés el óptimo global, es decir, el punto en el cual todas las variables involucradas proporcionan la mejor respuesta.

Para calcular el óptimo global se utilizaron dos métodos; el gráfico y el de la función deseabilidad. Para ello, se utilizó el programa Statgraphics, siendo los resultados los expuestos en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9. Valores de respuesta óptimas y deseabilidad

Respuesta	Optimizado	Predicción	Inferior 95.0% Limite	Superior 95.0% Límite	Deseabilidad individual
Contenido proteico	Si	75,0151	68,5618	81,4685	0,999978
Contenido de humedad	Si	7,905	7,85603	7,95397	0,622447
Rendimiento de proteínas en etapa isoelectrica	Si	98,3011	55,3536	141,249	0,938641
Rendimiento de proteínas en el proceso general	Si	23,5581	16,4573	30,6589	0,999984
Rendimiento de sólidos totales	Si	13,8482	10,1503	17,5462	0,990613
Rendimiento de proteínas vs sólidos	Si	81,4514	74,4508	88,4519	0,999979
Contenido lipídico	Si	12,1349	9,70677	14,5631	0,918013

A partir de la optimización global, se definieron como valores óptimos de los factores intervinientes en la etapa de precipitación isoelectrica, como indica la Tabla 5.10.

Tabla 5.10. Condiciones de operación óptimas en Statgraphics

Factor	Establecimiento
Temperatura	50,0006
Tiempo	45,0
pH	4,5

En la última columna de la Tabla 5.9 se pueden apreciar los valores de deseabilidad individuales, a partir de los cuales se calculó el óptimo global mediante el método de la función deseabilidad, cuyo valor global óptimo fue 0,913611.

Por otra parte, en el programa estadístico Minitab 7 se graficaron los efectos de los principales factores y, también, se calcularon los valores óptimos y sus respectivas deseabilidades, presentes en la Figura 5.30.

Al comprar los resultados de la optimización global se observa que existen diferencias entre los valores brindados por cada programa estadístico. Respecto del valor deseabilidad, Minitab 7 propone un valor de 0,9647 el cual es superior al 0,913611 propuesto por Statgraphics. En cuanto a las condiciones de operación, ambos programas consideran el mismo valor de temperatura y tiempo, pero proponen valores de pH diferentes; Statgraphics considera 4,5, que es el valor correspondiente al nivel del extremo máximo considerado, y Minitab 7 propone un valor igual a 4,27.

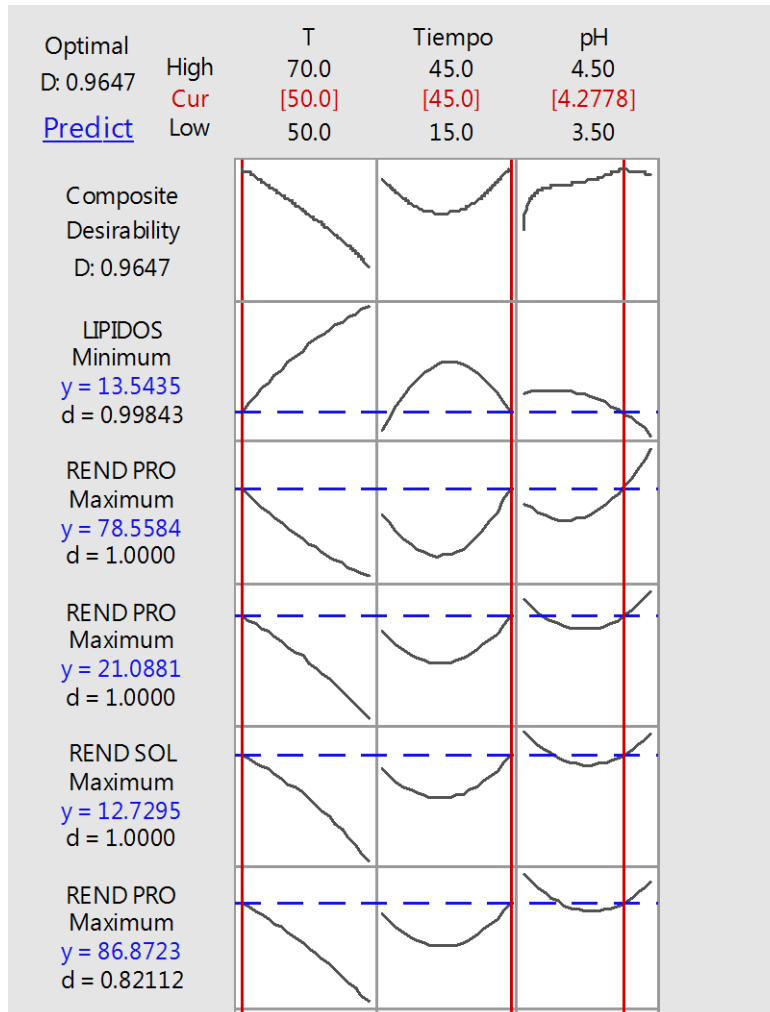


Figura 5.30. Valores óptimos, deseabilidades y principales efectos.

5.2. BALANCE DE MATERIA DEL PROCESO

Durante el desarrollo del proceso descrito en el capítulo anterior para producir productos proteicos de soja a partir de expeller, llevado a cabo en escala de laboratorio, se registraron los valores de las corrientes de entrada y salida como indica el diagrama de bloque de la Figura 4.2. A partir de dichos valores, se han calculado los balances de materia, global y parciales, del proceso.

Balance de materia global

$$F + S_1 + S_2 = W_2 + W_3 + P + H_2O$$

Los valores de F , S_1 , S_2 , W_2 , W_3 y P fueron obtenidos del proceso de manera directa al pesar cada una de sus porciones y se calculó H_2O . A partir de dichos datos se ha determinado que por cada 100 g de materia seca inicial de expeller se obtiene un 85 % de materia seca de desechos, que contienen principalmente fibras, y un 15 % de producto proteico con un contenido proteico superior al 70 %.

Balance de materia por especie: proteína

Las fracciones proteicas para los extractos en la primera y segunda etapa fueron 1,1 % y 0,04 % respectivamente. Por su parte el contenido de proteínas en el producto final obtenido fue del 72 %. Por lo tanto se procedió a conocer el contenido de proteínas del desecho líquido W_3 .

$$E_1 * x_{e1} + E_2 * x_{e2} = W_3 * x_{w3} + P * x_p$$

$$\rightarrow x_{w3} = 0,07 \%$$

Por otra parte, conociendo los datos iniciales, se calculó la fracción proteica del desecho sólido de la segunda etapa de extracción. De este modo, podemos definir el contenido proteico desechado, lo cual resulta ser un indicador directo de la extracción.

$$F * x_f = W_2 * x_{w2} + W_3 * x_{w3} + P * x_p$$

$$\rightarrow x_{w2} = 7,4 \%$$

A partir del balance de masa por especie, se ha determinado que la fracción proteica presente en el desecho sólido de la segunda etapa aún tiene un valor relevante. Por lo tanto, una vez que se terminaron de realizar todos los ensayos correspondientes al diseño de experimentos, se ejecutó un nuevo ensayo en el cual se varió la relación sólido:líquido a 1:20, manteniendo las condiciones de operación de la etapa isoelectrica a temperatura de 50 °C, durante 45 minutos y pH 4,5. En la Tabla 5.11 se comparan los valores resultantes de cada balance de materia.

Tabla 5.11. Comparación de fracciones proteicas entre balances de masa de proceso variando la relación sólido:líquido, utilizando temperatura 50 °C, tiempo 45 min y pH 4,5.

	Relación 1:10	Relación 1:20
Residuo sólido de la segunda extracción (W2)	29 %	18 %
Fracción proteica del residuo sólido W2 (Xw2)	0,074	0,001
Residuo líquido de la precipitación (W3)	63 %	71 %
Contenido proteico del residuo líquido W3 (Xw3)	0,007	0,01
Producto proteico final (P)	11 %	15 %
Fracción proteico del producto proteico final (Xp)	0,72	0,895

El balance de masa para el segundo ensayo de relación sólido-líquido 1:20, al ser comparado con el primero, muestra:

- una disminución del contenido proteico en el residuo sólido de la segunda etapa de extracción, lo cual indica que la extracción ha sido más eficiente.
- Un aumento del residuo líquido y de su contenido proteico, es decir, que no todas las proteínas extraídas han precipitado.
- Un aumento del rendimiento general del proceso tanto en cantidad de producto final como en contenido proteico, aproximándose bastante al valor establecido para aislados proteicos de soja.

A pesar del visible el aumento del contenido proteico en el segundo balance de masa, los ensayos han sido realizados utilizando la relación 1:10, dado que en esta instancia hemos evaluado las superficies de respuesta para la etapa de precipitación isoeléctrica, la cual es independiente de las etapas de extracción.

5.3 COMPOSICION DEL PRODUCTO PROTEICO OBTENIDO

El producto proteico final obtenido fue sometido a determinaciones analíticas. A partir de los resultados obtenidos de dichas determinaciones, se definieron sus parámetros medios y su composición final, presentes en la Tabla 5.12.

Tabla 5.12. Composición final del producto proteico de soja obtenido y composición establecida por CAA y FAO

Contenido (%)	Producto proteico obtenido		Composición establecida por CAA* y FAO	
	1º prueba	2º prueba	Concentrados	Aislados
Humedad 100-105°C máx.	7,8	4,3	8	4,7
Proteína (N x 6,25) mín.	75	89,5	70	90
Grasa (extracto etéreo) mín.	12	1	1	0,5
Fibra cruda máx.	0,2	0,2	20	0,3
Cenizas (500-550°C) máx.	5,93	5	5-8	4,5

*el CAA sólo establece como requisito un mínimo porcentaje proteico establecido en 70% para concentrados y 90% para aislados.

Como podemos observar en la Tabla 5.12 el producto proteico obtenido en la primera prueba tiene una composición que se asemeja a la establecida por FAO para concentrados proteicos, que difiere tanto en su contenido lipídico como de fibra cruda. Por otra parte, la composición de la segunda prueba se asemeja a la establecida para aislados proteicos. En ambos casos, el contenido en materia grasa es superior al establecido por FAO. Sin embargo, el Código Alimentario Argentino solo hace referencia al contenido mínimo de proteínas que debe contener el producto sin involucrar el contenido lípido ni de fibra cruda.

CAPITULO VI:

CONCLUSIONES

En principio, es relevante expresar que los resultados finales de la tesis han sido satisfactorios y se ha cumplido con la hipótesis inicial. Esto significa que el proceso seleccionado se ha adaptado satisfactoriamente a la nueva materia prima, expeller, y se ha obtenido un producto proteico final con un contenido de proteínas superior al 70 %. Es de interés resaltar, además, que se trata de un proceso de bajo costo que no utiliza solventes orgánicos, el cual podría fácilmente adaptarse a escala industrial, debido a que no presenta exigencias de operación críticas.

En general, la composición nutricional del producto obtenido se aproxima a los valores establecidos por el CAA y FAO para concentrados y aislados proteicos de soja. El contenido de proteínas, en la primera experiencia, responde a las exigencias propuestas para concentrados y, en la segunda, a pesar de no alcanzar el valor establecido para aislados (90% mínimo) se aproxima bastante. Las principales diferencias encontradas con la

normativa han sido el contenido de materia grasa y fibra cruda, principalmente en el producto obtenido del proceso donde fue utilizada la relación 1:10 en la extracción. A pesar de dichas diferencias, el Código Alimentario Argentino, en su definición de concentrados y aislados proteicos de soja, sólo expresa la exigencia de un mínimo contenido proteico de 70 % y 90 %, respectivamente, sin hacer referencia explícita sobre el resto de la composición.

Respecto de la materia prima utilizada, se debe resaltar que ha sido utilizado un expeller de buena calidad, definido de este modo por relevamientos previos llevados a cabo por el INTA con participación activa de la tesista. Dentro de los criterios de calidad considerados, el contenido residual de aceite es el de mayor relevancia. Resulta interesante evaluar a futuro, el mismo método utilizando un expeller de contenido residual superior al 7 %, dado que en esta experiencia el expeller contuvo 6,2 % de lípidos en su composición.

Para realizar el diseño de experimentos de la etapa de precipitación isoelectrica se consideraron factores y niveles de referencia; Sunley (1995) y López de Ogara et al. (1992), para la producción de concentrados y aislados proteicos de soja a partir de harinas y/o flakes. Por lo tanto, el diseño fue centrado en los niveles de temperatura a 60 °C, tiempo de 30 minutos y pH igual a 4. Sin embargo, a partir de los resultados se ha evidenciado que los valores óptimos se encuentran en extremos del diseño; T = 50 °C, tiempo = 45 minutos y pH = 4,5. Esto nos indica que dichos valores óptimos podrían ser considerados como niveles centrales de un nuevo diseño en nuevas evaluaciones.

Al analizar los resultados estadísticos de los ensayos, se ha observado que los efectos significativos de las variables fueron temperatura, tiempo, tiempo al cuadrado (t^2), pH y pH al cuadrado (pH^2). Sin embargo, se debe destacar que el efecto de t^2 se repitió en todas las variables, excepto para el contenido de humedad. En los resultados de contenido de proteínas y lípidos el efecto de t^2 es el más significativo, pero en los resultados de los rendimientos, a pesar de que el efecto t^2 fue significativo, el efecto más relevante fue la temperatura.

En un principio, durante la etapa de extracción de proteínas del expeller de soja mediante solución alcalina se utilizaron condiciones similares a las propuestas para el método tradicional de producción de aislados proteicos de soja. En esta instancia, se consideró una relación de sólido:líquido de 1:10, pH igual a 8, temperatura de 60 °C durante 30 minutos con agitación constante. El producto proteico obtenido bajo estas condiciones presentó un contenido de proteínas inferior al esperado y, por el contrario, un contenido de materia grasa bastante más elevado. En consecuencia, se decidió realizar una nueva experiencia cambiando sólo la relación sólido:líquido a 1:20 mientras el resto de las condiciones se mantuvieron con valores similares a la experiencia anterior. Los resultados obtenidos sobre la composición final del producto obtenido, luego de la modificación, indican que el contenido de proteínas aumentó significativamente alcanzando valores cercanos al 90 % de proteínas. Por el contrario, el contenido de lípidos disminuyó notablemente del 12 % al 1 %.

Cabe destacar que si bien los resultados nos han mostrados avances muy interesantes, estos nos desafían a plantear nuevos diseños de experimentos. Por un lado, de la etapa de extracción, dado que a priori los resultados han sido mejores. Por otro lado, de la precipitación isoeléctrica de modo que sea posible perfeccionar el diseño tomando los valores óptimos, considerados extremos en esta oportunidad, como niveles centrados.

Finalmente, se concluye que al tratarse el expeller de una materia prima diferente, también, las condiciones de operación óptimas difieren de las propuestas tradicionalmente para harinas y/o flakes de soja. Por otro lado, se ha abierto con este trabajo de tesis, un camino ambicioso con el cual se pretende seguir indagando, para poder darle respuesta a la demanda de diversos productores de la región que se encuentran muy interesados en poder sacar provecho y rentabilidad a un subproducto tan poco valuado, como es el expeller.

Bibliografía

AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS` SOCIETY (1989), *Moisture And volatile matter*. Official Method and Recommended Practices of the AOCS Ba 2a-38. 4th Edition, Champagne, Illinois.

AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS` SOCIETY (1989), *Protein, Copper + Titanium Dioxide Catalyst*. Official Method and Recommended Practices of the AOCS Ba 4d-90. 4th Edition, Champagne, Illinois.

AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS` SOCIETY (1989), *Oil Content*. Official Method and Recommended Practices of the AOCS Ba 3-38. 4th Edition, Champagne, Illinois.

Alessandria, M & Ruosi G (2009), *Producción vegetal* (Primera Edición). Córdoba, Argentina. Editorial IES Siglo XXI.

ANMAT (2010), *Código Alimentario Argentino. Capítulo XIX: Harinas, Concentrados, Aislados y derivados proteínicos*. Consultado en octubre 2013, http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp

ASAGA (2014), *Anuario ASAGA 2013-2014*. Consultado en agosto de 2014, <http://www.asaga.org.ar/ag/anuario-2014>.

Baigorri HEJ & Salado Navarro DL (2012), *El cultivo de soja en Argentina*. Argentina, Agroeditorial.

Baker EC & Rackis JJ (1986), Preparation of unheated soy protein isolates with low trypsin inhibitor content. *Agricultural Research Service US, 20, 349-355*. Illinois, Departamento de Agricultura de Peoria.

Baudi Dergal S (2013), *Química de los alimentos* (Quinta Edición). México, Editorial Pearson.

Bisang R, Anlló G, & Salvatierra G (2010), *Cambios estructurales en las cadenas agropecuarias: De lo primario a las cadenas globales de valor*. Cepal- Colección de documentos, La Plata.

Bishnu Karki (2009), *Use of high-power ultrasound during soy protein production and study of its effect on functional properties of soy protein isolate*. Tesis de doctorado. Ames, Iowa. Universidad del Estado de Iowa.

Bragachini M, Casini C, Saavedra AE, Mendez JM, Ustarroz F & Errasquin L (2012), Evolución del sistema productivo agropecuario argentino: mayor agregado de valor en origen. *Actualización técnica Nº 59, INTA PRECOP II*. Córdoba, Argentina.

Chajuss D (2011), *Soy Protein Concentrate*, Patente WO 2011/161665 A1.

Cheftel JC, Cuq JL, & Lorient D (1989), *Proteínas alimentarias. Bioquímica. Propiedades funcionales. Valor Nutritivo. Modificaciones químicas*. (Edición de la lengua española). Zaragoza, España. Editorial Acribia.

Cho MJ, Shen R, & Mooshegian R (2008), *Soy Protein Isolate*, Patente US 7332192 B2.

Choi IL, Choi SJ, Chun JK & Moon TW (2006), Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating, *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 407-419.

Cuniberti MR, & Trombetta E. (1997). *El cultivo de la soja en Argentina, publicaciones de INTA* (pp. 417–422). Córdoba, Argentina.

Deak NA, Johnson LA, Lusas EW, & Rhee KC (2008), "Soy Protein Products, Processing and Utilization", en *Soybeans: Chemistry, production, processing and utilization* (pp. 661–724). Illinois, Estados Unidos. Editorial AOCS.

Endress JG (2001), *Soy Protein Products: Characteristics, Nutritional aspects and Utilization*. Illinois, Estados Unidos. Editorial AOCS.

FAO (1992), *Technology of production of edible flours and protein products from soybeans*.

Consultado en <http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e00.htm>

Fellows P (2000), "*Liofilización y concentración por congelación*", en *Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica* (Segunda Edición, pp. 545–557). Zaragoza, España. Editorial Acribia.

Genta ML, & Alvarez N (2006), *El complejo soja*. Tucuman, Argentina. Universidad Nacional de Tucumán.

Gutiérrez Pulido H & de la Vara Salazar R (2008), *Análisis y Diseño de experimentos* (Segunda Edición). México. Editorial McGraw-Hill Interamericana.

He Z, Cao H, Cheng HN, Zou H & Hunt J (2013), Effects of vigorous blending on yield and quality of protein isolates extracted from cottonseed and soy flours, *Modern Applied Science*, 7 (10), 79-88.

IERAL (2011), *Una Argentina competitiva, productiva y federal: Cadena de la soja y sus productos derivados, año 17 (Edición N°108)*, Fundación Mediterránea, Córdoba.

INTI (2013), Ensayo de aptitud. Parámetros de calidad en expeller de soja. Suplemento informe final PARA-07/2013.

Johnson DW, Cussler EL, & Trank SJ (1989), *Soy protein isolation process using swellable poly (n-isopropylacrylamide) gels*, Patente US 4.863.613.

Kolar CW, Richert SH, Decker CD, Steinke FH & Van der Zanden RJ (1985), Isolated Soy Protein in "New Protein Foods", Edición Académica. Orlando, Florida.

Konwinsky AH (1992), *Process for making soy protein concentrate*, Patente US 5.097.017.

Liu KS (1997), *Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization*, (Primera Edición), Singapore, International Thomson Publishing Asia.

Londhe SV, Joshi MS, Bhosale AA, & Kale SB (2011), "Isolation of Quality Soy Protein from soya flakes", *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2 (3), 1175–1177.

Lopes Barbosa AC, Lajolo FM & Genovese MI (2006), Influence of temperature, pH and ionic strength on the production of isoflavone-rich soy protein isolates, *Food Chemistry* 98 (2006), 757-766.

López de Ogara MC, Delgado de Layño M, Pilosof AM, & Macchi RA (1992), "Functional properties of soy protein isolates as affected by heat treatment during isoelectric precipitation", *JAACS*, 69 (2), 184–187.

Mafart P (1994), "Liofilización", en *Ingeniería industrial alimentaria* (Edición de la lengua española), Vols. 1-II, Vol. I, pp. 242–252. Zaragoza, España. Editorial Acribia.

Maltais A, Remondetto GE, Gonzalez R & Subirade M (2005), Formation of soy protein isolate cold-set gels: protein and salt effects, *Journal of Food Science*, 70 (1), 67-73.

MECON (2011), Complejo Oleaginoso, consultado en <http://www.mecon.gov.ar>.

Mendez JM, Covacevich M, Capurro J, Bragachini M, Casini C y Saavedra A (2010), Procesamiento del grano de soja en la provincia de Santa Fe mediante extrusado y prensado. "Una alternativa para el agregado de valor en origen". INTA PRECOP II. Santa Fe, Argentina.

MINAGRI (2013), Derivados de la industrialización de soja: Harina y aceite, consultado en <http://www.minagri.gov.ar>.

Moulton KJ & Wang LC (1982), A Pilot-Plant study of continuous ultrasonic extraction of soybean protein, *Journal of Food Science*, 47 (1982), 1127-1129.

Nikolova A, Nedeva D & Tyankova L (2000), Electrophoretic patterns of proteins, isolated from soybean seeds grown under conditions of some mineral deficiency and after different periods of storage, *Journal Plant Physiology*, 26 (1-2), 27-38.

Remondetto GE, González RJ & Añón MC (2002), Effects of simultaneous heat and reducing treatments on some structural characteristics of soy isolates obtained at pilot plant scale, *Food Science and Technology International*, 8 (2002), 223-228.

Rickert DA, Meyer MA, Hu J & Murphy PA (2004), Effect of extraction pH and temperature on isoflavone and saponin partitioning and profile during soy protein isolate production, *Journal of Food Science*, 69 (8), 623-631.

Russin TA, Arcand Y, & Boyle JI (2007), "Particle size effect on soy protein isolate extraction", *Journal of Food Processing and Preservation*, 31, 308–319.

Siqueiros Tarazón A (2004), *Aplicación de la Metodología de Superficies de Respuesta para el Mejoramiento de la Calidad del Aceite de Soya*. Tesis de licenciatura. Sonora, México. División de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Matemáticas, Universidad de Sonora.

Sunley N (1995), *Soya Protein Isolate Production by various methods*. Tesis de Maestría. Durban, Departamento de Química aplicada, Universidad de Natal.

Vian Ortuño A, & Ocon García J (1979), "Extracción sólidos con líquidos", en *Elementos de Ingeniería Química* (Quinta Edición, pp. 596–614). Madrid, España. Editorial Aguilar.

Vioque J, Sánchez – Vioque R, Pedroche J, Yust M, & Millán F (2001), Información Tecnológica: Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Grasas Y Aceites*, 52(2), 127–131.

Wang XS, Tang CH, Li BS, Yang XQ, Li L & Ma CY (2007), Effects of high pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates, *Food Hydrocolloids*, 22 (2008), 560-567.