

1.1.-PROTEÍNAS

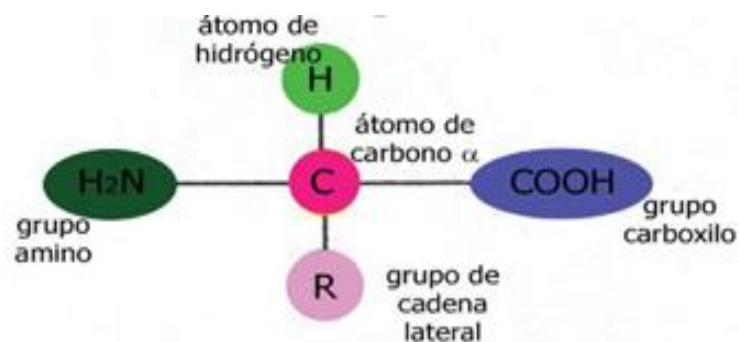
El término proteína deriva del griego "proteos"(lo primero, lo principal), Las proteínas son biomoléculas formadas básicamente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Pueden además contener azufre y en algunos tipos de proteínas, fósforo, hierro, magnesio y cobre, entre otros elementos (Luque, M. 2009).

Pueden considerarse polímeros de unas pequeñas moléculas que reciben el nombre de aminoácidos. Los aminoácidos están unidos mediante enlaces peptídicos. La unión de un bajo número de aminoácidos da lugar a un péptido; si el número de aminoácidos que forma la molécula no es mayor de 10, se denomina oligopéptido, si es superior a 10 se llama polipéptido y si el número es superior a 50 aminoácidos se habla ya de proteína (Luque, M. 2009).

1.1.1 AMINOÁCIDOS

Son las unidades básicas que forman las proteínas. Su denominación responde a la composición química general que presentan, en la que un grupo amino ($-NH_2$) y otro carboxilo o ácido ($-COOH$) se unen a un carbono α ($-C-$). Las otras dos valencias de ese carbono quedan saturadas con un átomo de hidrógeno ($-H$) y con un grupo químico variable al que se denomina radical ($-R$).

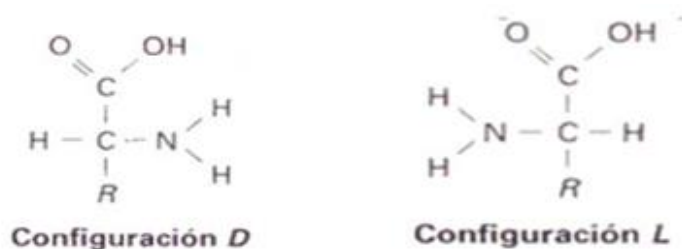
La fórmula general de un aminoácido según (Luque, M. 2009) es:



Tridimensionalmente el carbono α presenta una configuración tetraédrica en la que el carbono se dispone en el centro y los cuatro elementos que se unen a él ocupan los vértices. Cuando en el vértice superior se dispone el $-COOH$ y se mira por la cara opuesta al grupo

R, según la disposición del grupo amino (-NH₂) a la izquierda o a la derecha del carbono α se habla de α -L-aminoácidos o de α -D aminoácidos respectivamente. En las proteínas solo se encuentran aminoácidos de configuración L (Luque, M. 2009).

Configuraciones L y D de los aminoácidos según (Luque, M. 2009):



Existen 20 aminoácidos que se combinan para formar las proteínas, algunos pueden ser sintetizados por el organismo, por lo que se denominan **no esenciales** y hay otros, los denominados **aminoácidos esenciales** o indispensables que, sin embargo, no pueden ser sintetizados por el hombre por lo que tienen que ser aportados por los alimentos, a través de la ingesta directa a través de la dieta (Carbajal, A. 2013). Las rutas para la obtención de estos aminoácidos esenciales suelen ser largas y energéticamente costosas. Cuando un alimento contiene proteínas con todos los aminoácidos esenciales, se dice que son de alta o de buena calidad. Algunos de estos alimentos son: la carne, los huevos, los lácteos y algunos vegetales como la espelta, la soja y la quínoa (Luque, M. 2009).

En la tabla I-1, Se mencionan los 20 aminoácidos esenciales y no esenciales que se combinan para formar las proteínas.

Tabla I-1: Aminoácidos esenciales y no esenciales

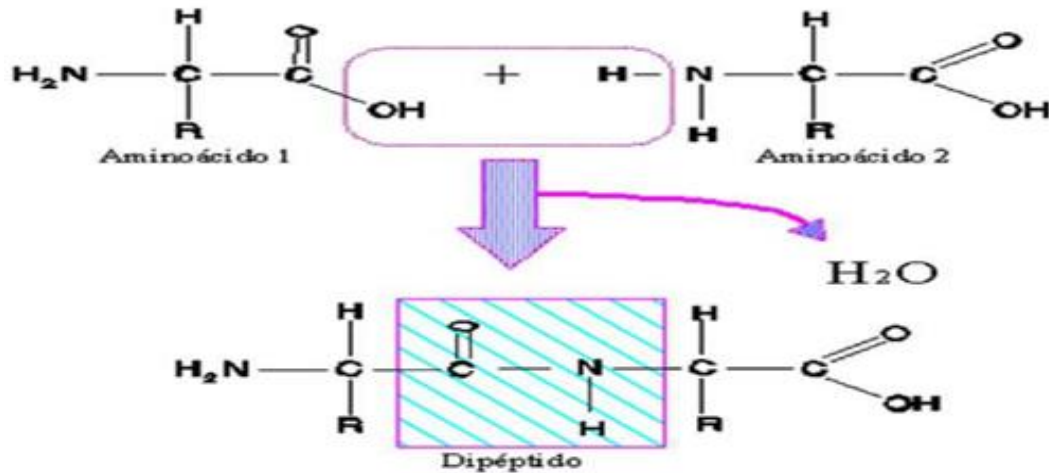
Aminoácidos esenciales	Aminoácidos no esenciales
Histidina	Alanina
Isoleucina	Arginina
Leucina	Acido aspártico
Lisina	Asparragina
Metionina	Cisteína
Fenilalanina	Acido glutámico
Treonina	Glutamina
Triptófano	Glicina
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

Fuente: Carbajal, A. 2013.

1.1.1.1- ENLACE PEPTÍDICO DE LOS AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos se encuentran unidos linealmente por medio de uniones peptídicas. Estas uniones se forman por la reacción de síntesis (vía deshidratación) entre el grupo carboxilo del primer aminoácido con el grupo amino del segundo aminoácido es decir (Es un enlace covalente que se establece entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del siguiente aminoácido, dando lugar al desprendimiento de una molécula de agua) y el producto de esta unión es un dipéptido. El grupo carboxilo libre del dipéptido reacciona de modo similar con el grupo amino de un tercer aminoácido, y así sucesivamente hasta formar una larga cadena. Podemos seguir añadiendo aminoácidos al péptido, porque siempre hay un extremo NH_2 terminal y un COOH terminal, como se puede ver en la siguiente reacción de síntesis vía deshidratación (Luque, M. 2009).

Unión peptídica de aminoácidos mediante reacción de síntesis (vía deshidratación)



Fuente: Luque, M. 2009.

1.1.2.-ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Todas las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos. Lo que hace distinta a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos de que está hecha; a tal secuencia se conoce como estructura primaria de la proteína. Sin embargo, la secuencia lineal de aminoácidos puede adoptar múltiples conformaciones en el espacio que se forma mediante el plegamiento del polímero lineal. Por tanto, podemos distinguir cuatro niveles de estructuración en las proteínas (Luque, M. 2009):

- Estructura primaria
- Estructura secundaria
- Estructura terciaria
- Estructura cuaternaria

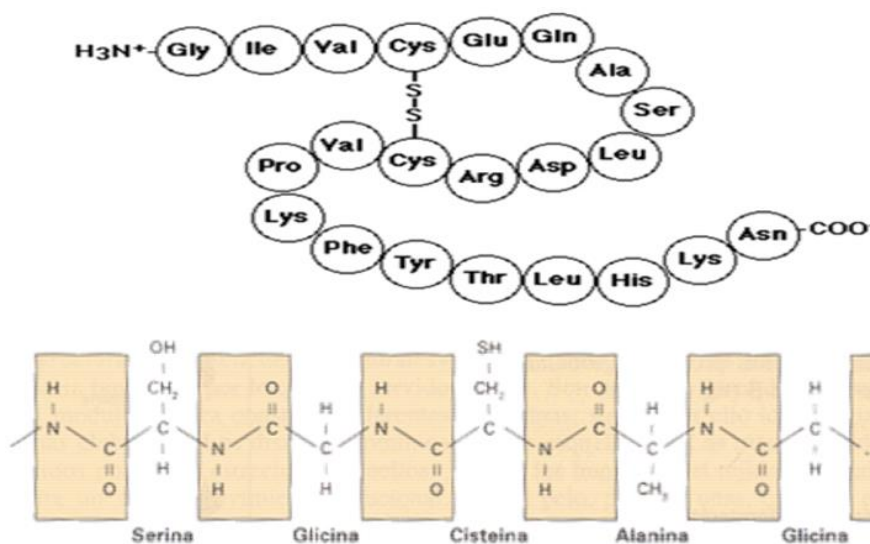
Los enlaces que determinan la estructura primaria son covalentes (enlace amida o enlace peptídico), mientras que la mayoría de los enlaces que determinan la

conformación (estructuras secundaria y terciaria) y la asociación (estructura cuaternaria) son de tipo no covalente (Luque, M. 2009).

1.1. 2.1.- ESTRUCTURA PRIMARIA DE LAS PROTEÍNAS

En la figura (1-1), se muestra la estructura primaria de las proteínas que viene determinada por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados las posibilidades de estructuración a nivel primario son prácticamente ilimitadas. Como en casi todas las proteínas existen 20 aminoácidos diferentes, el número de estructuras posibles viene dado por las variaciones con repetición de 20 elementos tomados de n en n , siendo n el número de aminoácidos que componen la molécula proteica (Luque, M. 2009).

Figura 1-1: Estructura primaria de las proteínas



Fuente: Luque, M. 2009.

Como consecuencia del establecimiento de enlaces peptídicos entre los distintos aminoácidos que forman la proteína se origina una cadena principal o "esqueleto" a partir del cual emergen las cadenas laterales de los aminoácidos. La estructura primaria de una proteína es determinante en la función que cumplirá después, así las proteínas estructurales (como aquellas que forman los tendones y cartílagos) poseen mayor cantidad de aminoácidos rígidos y que establezcan enlaces químicos fuertes unos con otros para dar

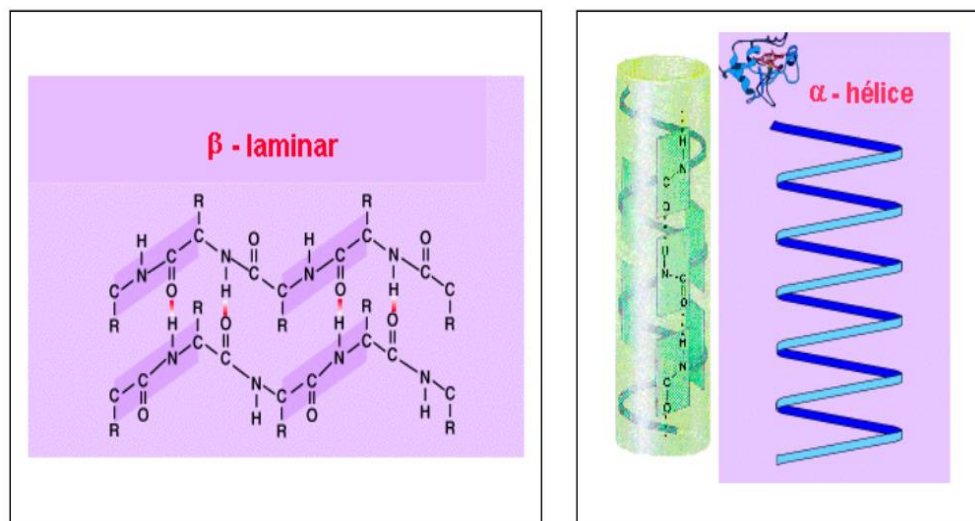
dureza a la estructura que forman. La secuencia de aminoácidos está especificada en el ADN por la secuencia de nucleótidos. Generalmente, el número de aminoácidos que forman una proteína oscila entre 80 y 300 (Riedel, M. 2008).

1.1.2.2.- ESTRUCTURA SECUNDARIA DE LAS PROTEÍNAS

La estructura secundaria es la disposición de la secuencia de aminoácidos en el espacio, los aminoácidos a medida que van siendo enlazados durante la síntesis de proteínas y gracias a la capacidad de giro de sus enlaces, adquieren una disposición espacial estable, la estructura secundaria (Riedel, M. 2008).

Existen dos tipos de estructura secundaria como se puede ver en la figura (1-2). La alfa-hélice y la lámina beta (Riedel, M. 2008).

Figura 1-2: Estructura secundaria “alfa-hélice y lámina beta”



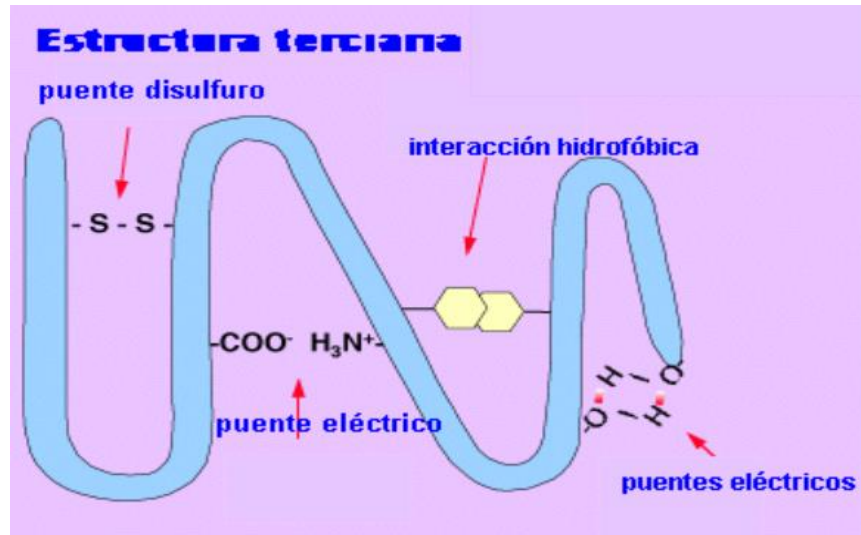
Fuente: Riedel, M. 2008.

1.1.2.3.- ESTRUCTURA TERCIARIA DE LAS PROTEÍNAS

Es la disposición espacial que adopta la estructura secundaria al replegarse adquiriendo una conformación más o menos redondeada. En la figura (1-3), se muestra la estructura terciaria de las proteínas, la cual informa sobre la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido al plegarse sobre sí misma originando una conformación globular. En

definitiva, es la estructura primaria la que determina cuál será la secundaria y por tanto la terciaria (Riedel, M. 2008).

Figura 1-3: Estructura terciaria de las proteínas



Fuente: Riedel, M. 2008.

Esta conformación globular facilita la solubilidad en agua y así realizar funciones de transporte, enzimáticas, hormonales, etc. (Riedel, M. 2008).

Esta conformación globular se mantiene estable gracias a la existencia de enlaces entre los radicales R de los aminoácidos. Aparecen varios tipos de enlaces (Riedel, M. 2008).

1. Fuertes:

- Puentes disulfuro (S-S) entre los radicales de aminoácidos que tiene azufre.

2. Débiles:

- Los puentes de hidrógeno: entre aminoácidos polares

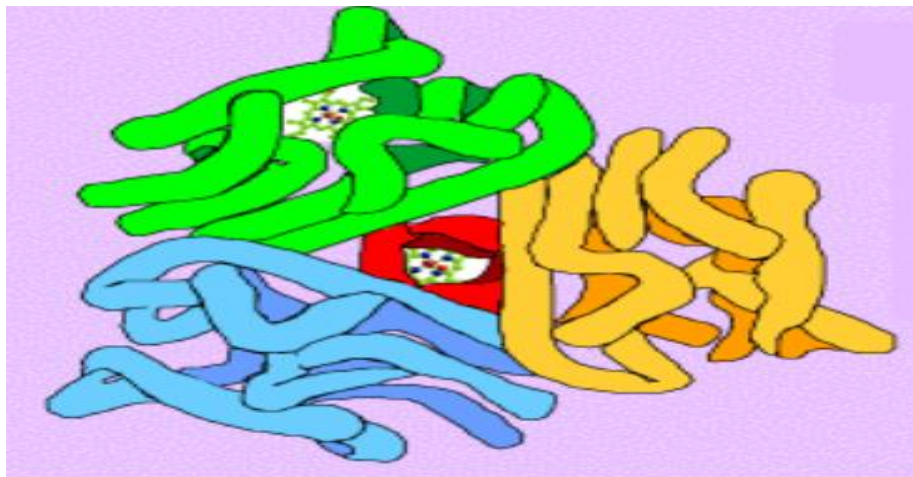
- Interacciones iónicas: entre radicales con cargas opuestas (aminoácidos ácidos y básicos)
- Las interacciones hidrófobas. Los aminoácidos apolares se disponen en el interior de la estructura.
- Fuerzas de Van der Waals: Atracción gravitatoria

1.1.2.4.-ESTRUCTURA CUATERNARIA DE LAS PROTEÍNAS

Esta estructura informa de la unión, mediante enlaces débiles (no covalentes) de varias cadenas polipeptídicas con estructura terciaria, para formar un complejo proteico. Cada una de estas cadenas polipeptídicas recibe el nombre de protómero. El número de protómeros varía desde dos como en la hexoquinasa, cuatro como en la hemoglobina, o muchos como la cápsida del virus de la poliomielitis, que consta de 60 unidades proteicas (Riedel, M. 2008).

En la figura (1-4), se observa la estructura cuaternaria de las proteínas (Riedel, M. 2008).

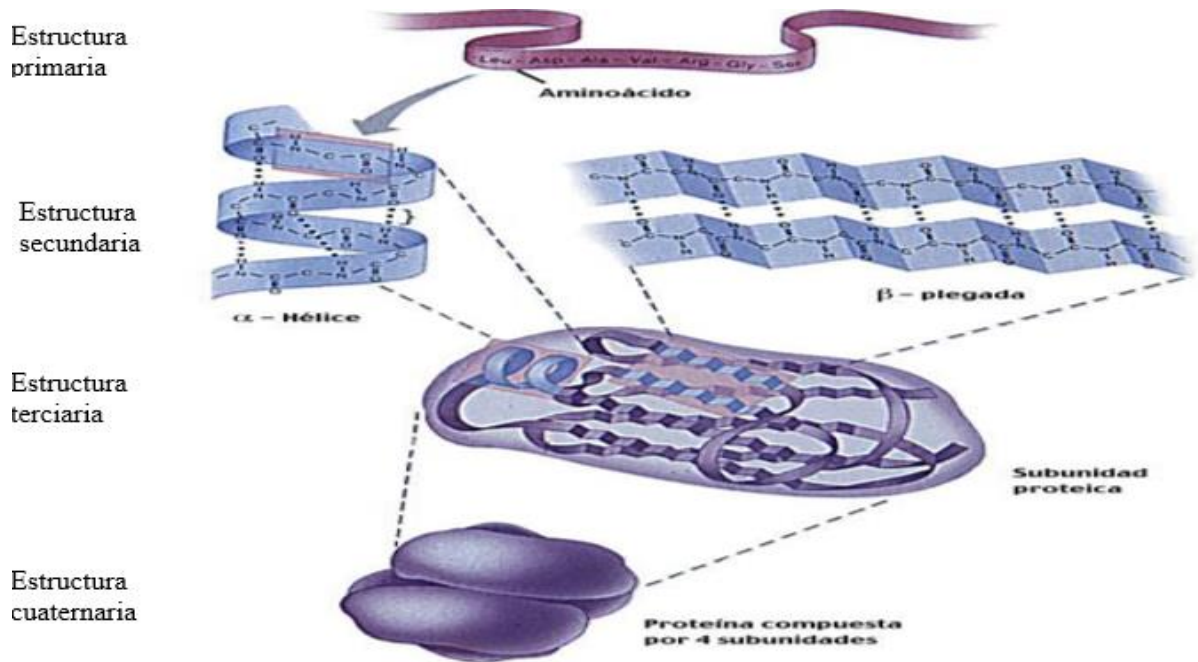
Figura 1-4: Estructura cuaternaria de las proteínas



Fuente: Riedel, M. 2008.

En la figura (1-5), se muestra como se interrelacionan entre sí cada una de las cuatro estructuras.

Figura 1-5: Interrelación entre estructuras de las proteínas



Fuente: Riedel, M. 2008.

1.1.3.- PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS

➤ Especificidad

La especificidad se refiere a su función; cada una lleva a cabo una determinada función y lo realiza porque posee una determinada estructura primaria y una conformación espacial propia; por lo que un cambio en la estructura de la proteína puede significar una pérdida de la función (Luque, M. 2009).

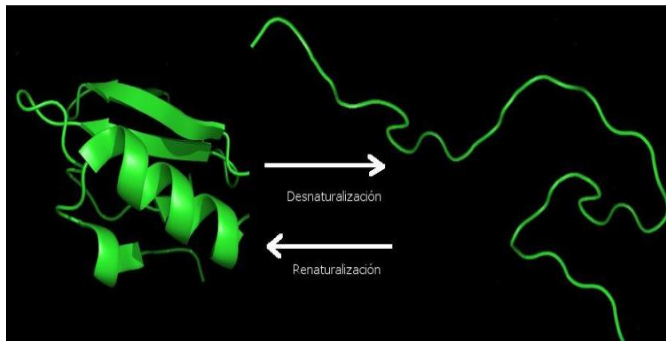
➤ Desnaturalización

Consiste en la pérdida de la estructura terciaria, por romperse los puentes que forman dicha estructura. Todas las proteínas desnaturalizadas tienen la misma conformación, muy

abierta y con una interacción máxima con el disolvente, por lo que una proteína soluble en agua cuando se desnatura se hace insoluble en agua y precipita (Luque, M. 2009).

Durante el proceso de desnaturación se rompen las interacciones débiles que mantienen estable la conformación pero se mantienen los enlaces covalentes del esqueleto polipeptídico, es decir, se pierden las estructuras secundaria, terciaria y, en su caso, cuaternaria, pero permanece intacta la secuencia de aminoácidos como se observa en la figura (1-6) (Riedel, M. 2008).

Figura 1-6: Desnaturalización de las proteínas



Fuente: Riedel, M. 2008.

El proceso de desnaturación, si se lleva a cabo en condiciones suaves (variaciones moderadas y graduales de temperatura o pH), es reversible: la proteína puede recuperar su conformación tridimensional nativa si se restituyen las condiciones iniciales. Este proceso recibe el nombre de renaturalización. En la Figura (1-6) se ilustra el proceso de desnaturación reversible de una cadena polipeptídica. El proceso de renaturalización conlleva una recuperación de la función biológica de la proteína (que se había perdido durante la desnaturación), la secuencia de aminoácidos, que es lo único que permanece al final del proceso de desnaturación, que contiene la información suficiente para que se recupere la conformación tridimensional, y con ella la función biológica, en el proceso de renaturalización (Riedel, M. 2008).

La desnaturación puede ser provocada por diferentes causas o agentes desnaturizantes de tipo físico o químico. Destacaremos dos de ellos: uno físico (aumento de temperatura) y otro químico (alteración del pH) (Riedel, M. 2008).

1. Aumento de temperatura

Los aumentos de temperatura provocan una mayor agitación molecular que hace que las interacciones débiles que mantienen estable la conformación de la proteína terminen por ceder con la consiguiente desnaturalización (Riedel, M. 2008).

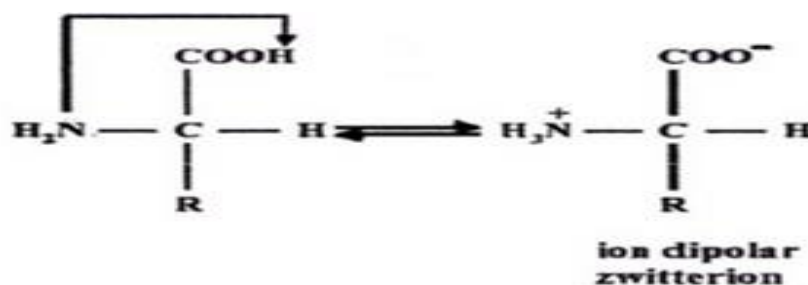
2. Alteración del pH

Estas alteraciones causan variación en el grado de ionización de distintos grupos funcionales (carboxilo, amino, hidroxilo, etc.) implicados en interacciones débiles que estabilizan la conformación. Estas variaciones provocan la rotura de dichas interacciones (sobre todo enlaces iónicos y también puentes de hidrógeno) y por lo tanto la desnaturalización (debido a ello son tan importantes los tampones que mantienen estable el pH de los fluidos biológicos) (Riedel, M. 2008).

1.1.4.- COMPORTAMIENTO ÁCIDO-BASE DE LOS AMINOÁCIDOS DE LAS PROTEÍNAS

Algunas de las **propiedades** de los aminoácidos (punto de fusión, solubilidad en agua, momentos dipolares) se debe a la distribución dispar de sus cargas eléctricas en solución acuosa. Así todos los aminoácidos en solución acuosa a un pH próximo a la neutralidad están bajo la forma de "iones Zwitteriones" (Pérez, G. y Navarro, Y. 2011).

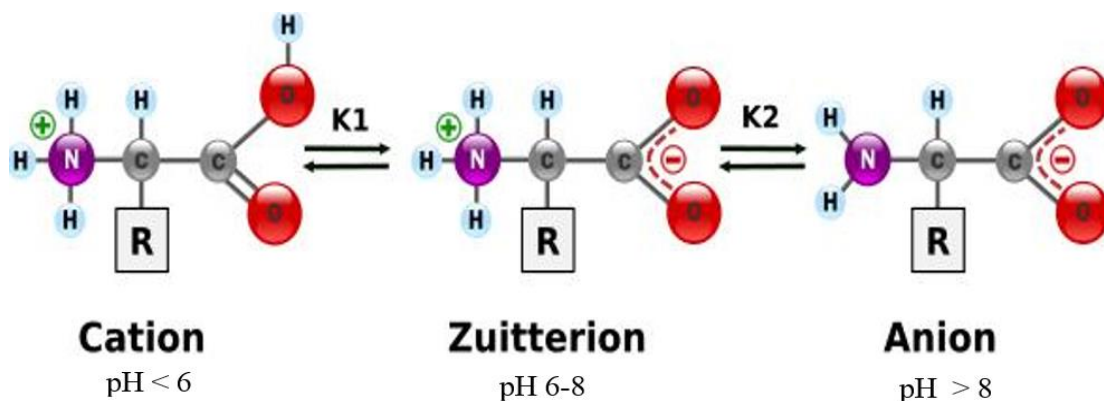
Un ion bipolar o zwitterion (del alemán ion híbrido). En la forma dipolar el grupo carboxilo se encuentra disociado (COO^-) y el grupo amino protonado ($-\text{NH}_3^+$), pero la carga de la molécula es neutra. Un zwitterion puede actuar como un ácido o como una base cediendo o aceptando protones por lo cual se denominan anfóteros o anfólitos) (Gonzales, V. 2013).



El grupo α -carboxilo se comporta como un ácido débil y el grupo amino, como una base débil. Donde la carga positiva y la carga negativa son de la misma magnitud y el conjunto de la molécula es eléctricamente neutro. En este estado se dice que el aminoácido se encuentra en su forma de ion dipolar o zwitterion (Pérez, G. y Navarro, Y. 2011).

En otros términos, estas moléculas son anfóteras. Cuando el aminoácido está en forma de Zwitteriones (el grupo carboxilo ionizado y el grupo amino protonado), la carga eléctrica global es igual a cero, se dice entonces que al pH donde esta carga sea igual a cero se designa como el punto isoelectrico (pI). En la figura (1-7), se muestra la estructura de los aminoácidos según el pH (Pérez, G. y Navarro, Y. 2011).

Figura 1-7: Estructura de los aminoácidos según el pH



Fuente: Pérez, G. y Navarro, Y. 2011.

Zwitterion o ion dipolar: Corresponde al grupo carboxilo ionizado α -carboxilo y el grupo amino que están disociados, por lo que la carga neta del aminoácido es nula. A este pH, el aminoácido no presentaría movilidad electroforética (Gonzales, V. 2013).

Punto isoelectrico (pI): Es el pH en que la carga neta del aminoácido es nula; en este punto el aminoácido se encuentra en forma de ion dipolar, así como en pequeñas cantidades equimolares de aniones y cationes y una pequeña fracción de aminoácido no ionizado. El pI de los aminoácidos neutros se localiza a pH \approx 6-8 (Gonzales, V. 2013).

1.1.5.-CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas se pueden clasificar atendiendo a diversos criterios: Su composición química, su estructura, sensibilidad y su solubilidad, una clasificación que engloba dichos criterios es (Luque, M. 2009).

- Holoproteínas o proteínas simples
- Heteroproteínas o proteínas conjugadas

1.1.5.1.-HOLOPROTEÍNAS O PROTEÍNAS SIMPLES

Son proteínas formadas únicamente por aminoácidos. Pueden ser globulares o fibrosas (Luque, M. 2009).

❖ Globulares

Las proteínas globulares se caracterizan por doblar sus cadenas en una forma esférica apretada o compacta dejando grupos hidrófobos hacia adentro de la proteína y grupos hidrófilos hacia afuera, lo que hace que sean solubles en disolventes polares como el agua. La mayoría de las enzimas, anticuerpos, algunas hormonas y proteínas de transporte, son ejemplos de proteínas globulares (Luque, M. 2009).

Algunos tipos de proteínas globulares según (Luque, M. 2009), son:

- Prolaminas: zeína (maíz), gliadina (trigo), hordeína (cebada)
- Gluteninas: glutenina (trigo), orizanina (arroz).
- Albúminas: seroalbúmina (sangre), ovoalbúmina (huevo), lactoalbúmina (leche).
- Globulinas: Las globulinas son el grupo de proteínas de reserva más ampliamente distribuido en la naturaleza, conforma la mayor parte de las proteínas en ciertos granos, por lo que han sido ampliamente estudiadas, principalmente en leguminosas como chícharo, soya y frijol.
- Hormonas: insulina, hormona del crecimiento, prolactina, tirotrópina
- Enzimas: hidrolasas, oxidasas, ligasas, liasas, transferasas...etc.

❖ Fibrosas

Las proteínas fibrosas presentan cadenas polipeptídicas largas y una estructura secundaria atípica. Son insolubles en agua y en disoluciones acuosas.

Algunas proteínas fibrosas según (Luque, M. 2009), son:

- Colágenos: en tejidos conjuntivos, cartilagosos
- Queratinas: en formaciones epidérmicas: pelos, uñas, plumas, cuernos.
- Elastinas: en tendones y vasos sanguíneos
- Fibroínas: en hilos de seda, (arañas, insectos)

1.1.5.2. HETEROPROTEÍNAS O PROTEÍNAS CONJUGADAS

Las heteroproteínas están formadas por una fracción proteínica y por un grupo no proteínico, que se denomina grupo prostético. Dependiendo del grupo prostético existen varios tipos (Luque, M. 2009).

❖ Glucoproteínas

Son moléculas formadas por una fracción glucídica (del 5 al 40%) y una fracción proteica unidas por enlaces covalentes. Algunas de ellas son (Luque, M. 2009).

- ❖ Ribonucleasa
- ❖ Mucoproteínas
- ❖ Anticuerpos
- ❖ Hormona luteinizante

❖ Lipoproteínas

Son complejos macromoleculares esféricos formados por un núcleo que contiene lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) y una capa externa polar formada por fosfolípidos, colesterol libre y proteínas (apolipoproteínas) (Luque, M. 2009).

Las lipoproteínas se clasifican según su densidad (Luque, M. 2009), en:

- Lipoproteínas de alta densidad
- Lipoproteínas de baja densidad
- Lipoproteínas de muy baja densidad

❖ Nucleoproteínas

Son proteínas estructuralmente asociadas con un ácido nucleico (que puede ser ARN o ADN). Por ejemplo la Telomerasa, una ribonucleoproteína (complejo de ARN/proteína) y la Protamina (Luque, M. 2009).

❖ Cromoproteínas

Las cromoproteínas poseen como grupo prostético una sustancia coloreada, por lo que reciben también el nombre de pigmentos (Luque, M. 2009).

Según la naturaleza del grupo prostético, pueden ser pigmentos porfirínicos como la hemoglobina encargada de transportar el oxígeno en la sangre o no porfirínicos como la hemocianina, un pigmento respiratorio que contiene cobre y aparece en crustáceos y moluscos, por ejemplo. También los citocromos, que transportan electrones (Luque, M. 2009).

1.1.6.-GENERALIDADES DE LA PROTEÍNA DE SOYA

El componente de mayor abundancia presente en la soya es la proteína, con alrededor del 40 % en materia seca. En la actualidad, ya no solo se utiliza el aceite de soya para el consumo humano, sino la proteína para realizar diferentes alimentos y elevar la cantidad de nutrientes. Por consiguiente, ya que el consumo de soya ha aumentado en el mundo, debido a, su alto contenido de proteína y diversificación en su uso como ingrediente funcional de algunos alimentos, se requiere una sobreproducción para abastecer todos los requerimientos (Liu, K.1999).

1.1.7.-CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

La clasificación y composición de la proteína de soya es bastante compleja. Estos problemas son originados por la complejidad de la proteína de la semilla y los métodos de extracción y aislamiento (Liu, K. 1999).

Según los perfiles de solubilidad, las proteínas de las semillas de leguminosas se dividen en globulinas y albúminas. Las albúminas son solubles en agua mientras que, las globulinas son solubles en soluciones salinas (Munive, P. 2009).

1.1.8.- CALIDAD NUTRICIONAL DE LA PROTEÍNA DE SOYA

Una de las mayores razones de que la soya es considerada como una gran fuente proteica se debe a que no solo tiene una alta cantidad de proteína, sino una alta calidad, porque contiene todos los aminoácidos esenciales requeridos en la nutrición humana: isoleucina, leucina, lisina, metionina y cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina e histidina. Sin embargo, su contenido de metionina y triptófano es bajo pero se complementa al combinarse con cereales generando una proteína tan completa como la de origen animal (Jiménez, A. 2007). Por consiguiente, se han usado ampliamente los productos de proteína de soya, como suplementos alimenticios y en otros alimentos enriquecidos, para diversificar su uso (Liu, K. 1999).

1.2.- LA SOYA

La **soya** (*Glycine max*) es una especie de la familia de las leguminosas (Fabaceae) cultivada por sus semillas, de medio contenido en aceite y alto de proteína. El grano de soya y sus subproductos (aceite y harina de soya), principalmente se utilizan en la alimentación humana y del ganado. Se comercializa en todo el mundo, debido a sus múltiples usos (Newman, A. 2007).

EL cultivo de la soya es anual cuya planta alcanza generalmente una altura de 80 cm; la soya se desarrolla óptimamente en regiones cálidas y tropicales. La planta se cosecha aproximadamente 120 días después de la siembra. La soya es una fuente importante de nutrientes y uno de los productos alimenticios más versátiles (Liu, K. 1999).

La soya es una excelente fuente de proteínas de alta digestibilidad (92-100%), considerada como la proteína vegetal más nutritiva, la cual se convierte en un complemento idóneo en dietas vegetarianas y de calidad comparable a las proteínas de origen animal. De igual manera que el resto de las proteínas, la de soya aporta energía, aminoácidos esenciales y nitrógeno. Cuenta con un adecuado contenido de aminoácidos esenciales que representan beneficios importantes para la salud (Luna, A.

2006). En la tabla I-2, se observa la composición química del grano de soya en porcentaje.

Tabla I-2: Composición química del grano de soya

Composición	Grano de soya (crudo)
Energía (kcal/100g)	360
Proteínas	38
Grasas	18
Lecitina	1,5-2,5
Minerales	3
Carbohidratos insolubles y solubles	14
Humedad	13

Fuente: Munive, P. 2009.

La tabla I-3, muestra la composición química de las partes atómicas de la soya en porcentaje.

Tabla I-3: Composición química de las partes atómicas de la soya

Partes atómicas	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Cenizas	Proporción de la semilla
Soya total	40	21	34	4,9	100
Cotiledón	43	23	29	5	90
Cascarilla	9	1	86	4,4	8
Hípcotilo	41	11	43	4,3	2

Fuente: Munive, P. 2009.

En la tabla I-4, se observa la composición de aminoácidos esenciales (mg/g de proteína) de la soya y sus productos.

Tabla I-4: Composición de aminoácidos esenciales de la soya y sus productos

Aminoácidos	Semilla	Harina	Concentrado	Aislado
Isoleucina	35	51	48	49
Leucina	79	77	79	82
Lisina	62	69	64	64
Metionina y cisteína	21	32	28	26
Fenilalanina y tirosina	87	89	89	92
Treonina	41	43	45	38
Triptófano	n/a	13	16	14
Valina	37	54	50	50

Fuente: Munive, P. 2009.

1.2.1.- HARINA DE SOYA

Es el producto resultante (molido) del procesamiento industrial de granos de soya, los cuales se ha extraído la mayor parte de su aceite con el método por solvente. La Harina de soya es la principal fuente de proteína en la elaboración de alimentos balanceados. La forma más común de la harina de soya desengrasada es llamada “harina de soya”, lo que es un nombre equivocado desde que no es una harina en el mismo sentido que la harina de trigo. Sin embargo se parece a la harina en apariencia y propiedades de flujo. Es lo bastante fina para que el 100% pase a través de la malla 100 US Standard y el 60% atraviesa el tamiz de 300 mallas. La harina de soya de este tamaño de partículas fluidizará rápidamente en sistemas Neumáticos. Aunque el tamaño de las partículas es importante para las operaciones siguientes que involucran transferencia de materia, la condición de la proteína es de principal importancia (Munive, P. 2009).

1.2.1.1.- VARIETADES DE HARINA DE SOYA

Las harinas proteínicas de origen vegetal como la harina de soya: son los productos de la

molienda de semillas limpias, sanas, enteras, parcial o totalmente decorticadas, que han sido sometidas o no a procesos de remoción parcial o prácticamente total del aceite que contienen (Díaz, F. 2005).

Los diversos tipos de harina de soya que se consideran según (Díaz, F. 2005), son:

- Harina de soya con toda la grasa
- Harina de soya con bajo contenido de grasa
- Harina de soya desengrasada

En la tabla I-5, se muestran los diversos tipos de harina de soya que se consideran responderán a las siguientes características:

Tabla I-5: Composición química de los diversos tipos de harina de soya

Componentes	Harina de soya		
	Con toda la grasa	Con bajo contenido de grasa	Desengrasada
Humedad máxima	9	9	11
Proteína total	35	45	52,8-59,00
Grasa	18	4,5-9	Máxima 2
Fibra	3	3,3	3,85
Cenizas	5,5	6,5	7,7

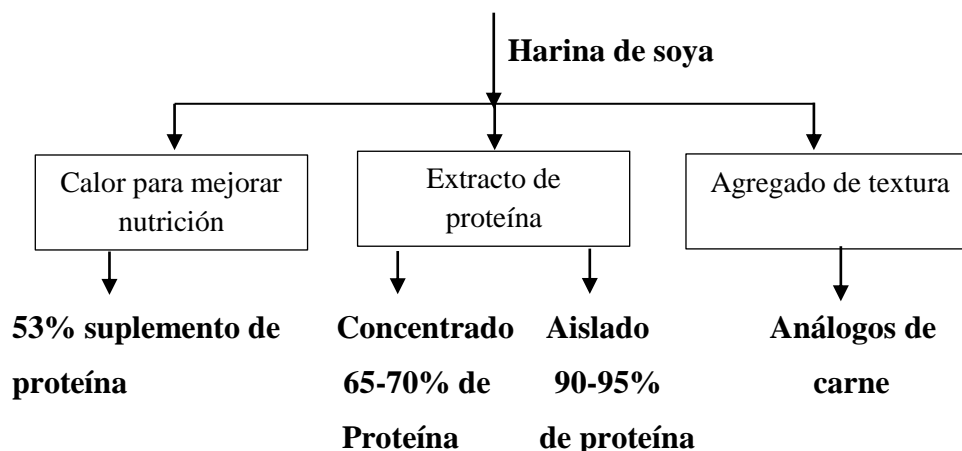
Fuente: Scalabrini, R. 2009.

De acuerdo al valor máximo de proteína que presenta la harina de soya desengrasada con respecto a las otras y bajo contenido de grasa es la adecuada para obtener aislado de proteína de soya.

1.2.1.1.1.- PRODUCTOS DERIVADOS DE LA HARINA DE SOYA Y SU FORMA DE CONSUMO

Hay varios pasos para agregar valor a la harina de soya, como se muestra en la siguiente figura 1-8.

Figura 1-8: Suproducto de la harina de soya



Fuente: Munive, P. 2009.

Actualmente la harina de soya es utilizada como un subproducto de bajo valor añadido que es usado fundamentalmente para la alimentación del ganado. Sin embargo los contenidos en proteínas de estos subproductos hacen interesante el desarrollo de procesos de extracción de las mismas, para su utilización en otras aplicaciones, como en la alimentación humana, como vemos podemos obtener a partir de ella productos como son los concentrados de proteína, aislados de proteína, suplemento de proteína y análogos de carne. Los cuales son de alto valor nutricional que son de gran importancia para la alimentación humana (Munive, P. 2009)

1.3.- AISLADO DE PROTEÍNA DE SOYA

Los aislados proteicos son la forma comercial más purificada, que se logran eliminando los polisacáridos, oligosacáridos y algunos otros componentes ya sea por: hidrólisis y posterior precipitación, por adición de ácidos minerales, controlando los diferentes parámetros como: el pH, temperatura, solubilidad y otros, que permiten el enriquecimiento de la proteína requerida (Lorient, D. 1994).

Es el producto más refinado de soya, contiene aproximadamente 90% de proteína sobre una base libre de humedad, Se elabora a partir de harina de soya desengrasada, a la que se elimina la mayor parte de sus componentes no-proteicos, grasas y carbohidratos, debido a esto tiene un sabor neutral (Liu, K. 1999).

1.3.1.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

En la tabla I-6, Se muestra la composición química de aislado de proteína de harina de soya desengrasada en base húmeda y base seca (Liu, K. 1999).

Tabla I-6: Composición química del aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Composición	Aislado de proteína (%)	
	BH	BS
Proteína total	86,0-87,0	90,0-92,0
Grasa	0,5-1,0	0,5-1,0
Fibra cruda	0,1-0,2	0,1-0,2
Cenizas	3,8-4,8	4,0-5,0
Humedad	4,0-6,0	0
Carbohidratos	3,0-4,0	3,0-4,0

Fuente: Liu, K. 1999.

Los aislados de soya generalmente contienen un porcentaje alto de proteína soluble y un perfil de sabor bajo. Las características del aislado de proteína de soya son: polvo fino homogéneo, dependiendo del aislado específico presentan variación en el tamaño de partícula con color que va del beige al café claro, libre de partículas extrañas (Liu, K. 1999).

1.3.2.-IMPORTANCIA Y APLICACIONES DEL AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

El aislado de soya es una fuente rica en proteínas vegetales además de contar con gran cantidad de aminoácidos esenciales que representan beneficios importantes para la salud, como la de reducir los niveles de colesterol en la sangre ya que contiene isoflavonas

(compuestos que previenen enfermedades del corazón tanto en hombre como en mujeres, previene la osteoporosis, entre otros) por lo tanto se emplea en las dietas como ingrediente o como producto principal puesto que aporta distintas propiedades funcionales y un alto valor nutricional dado que contiene un 90% de proteína en su composición (Ridner, E. 2006).

La proteína de soya, regenera todos los tejidos con mayor rapidez porque está constituida por todos los aminoácidos esenciales y no esenciales. Es más saludable para los vasos sanguíneos, huesos y riñones, que la proteína animal. Por lo cual los aislados de proteína de soya se utilizan como alternativa nutricional, funcional o económica de las proteínas tradicionales (Mercedes, M. 2007).

Es así como el aislado de soya se muestra como un ingrediente versátil, para el cual se han encontrado aplicaciones también en quesos frescos, semi-análogos y análogos, bebidas proteicas, yogurt, postres helados, polvos lácteos, reemplazantes lácteos, sopas, cereales para desayuno, pastas , etc. (Torres, N. 2009).

En panificación se utiliza el aislado de proteína de harina de soya desengrasada ya que incrementa el rendimiento de la masa y mejora sus características de manipulación, porque las proteínas tienen la capacidad de absorber y retener agua (Torres, N. 2009).

1.4.- TEORÍA DE EXTRACCIÓN

La extracción se define como la transferencia de una sustancia de una fase a otra, es la técnica empleada para la separación de uno o más componentes de una mezcla por medio de un disolvente (Coulson, J. y Richardson, J. 2009). En la práctica es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las soluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran (Fernández, G. 2012). Aunque también se utilizan técnicas de **extracción sólido-líquido** que se aplica solamente a las operaciones en que existen dos fases una fase sólida y otra líquida, ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido hasta la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales de sólido (Coulson, J. y Richardson, J. 2009). La extracción tiene lugar en dos etapas (Coulson, J. y Richardson, J. 2009):

- Contacto del disolvente o solvente con el sólido a tratar, que sede el constituyente

soluble (solute) al disolvente.

- Lavado o separación de la disolución y el resto del sólido.

La más frecuente es la **extracción líquido-líquido**, que es un método muy útil para separar componentes de una mezcla o suspensión, la extracción del producto de reacción deseado a partir de una mezcla acuosa se puede conseguir añadiendo un disolvente orgánico adecuado, más o menos denso que el agua, que sea inmiscible con el agua y capaz de solubilizar la máxima cantidad de producto a extraer pero no las impurezas que lo acompañan en la mezcla de reacción (Fernández, G. 2012). En otras ocasiones, el compuesto orgánico que interesa se puede separar de la mezcla de reacción aprovechando sus propiedades ácido-base, **la extracción ácido-base** en este caso los compuestos orgánicos con carácter ácido o básico que están disueltos en un disolvente orgánico, pueden llevarse a una fase acuosa simplemente aprovechando sus propiedades ácido/base. Las sales que se forman en estas extracciones son solubles en agua e insolubles en disolvente orgánico, al contrario que el resto de compuestos orgánicos de la mezcla inicial (Fernández, G. 2012). Si la reacción se ha efectuado en agua, hay que recuperar el producto contenido en la disolución acuosa, utilizando un disolvente inmiscible con ella (Fernández, G. 2012).

1.5.- MÉTODOS DE ELABORACIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

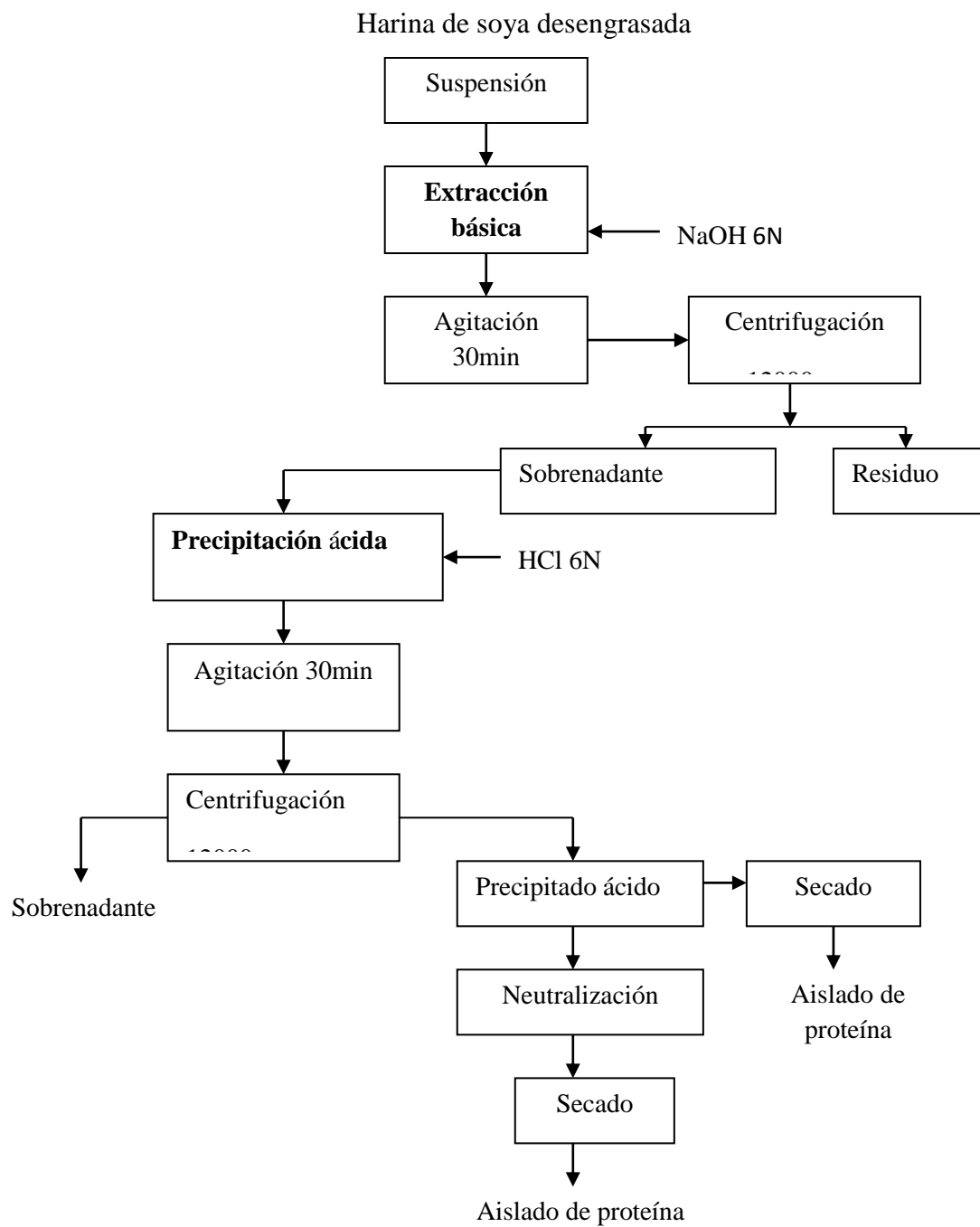
El aislado de proteína de harina de soya desengrasada se pueden obtenerse mediante los siguientes métodos (Munive, P. 2009):

- ❖ Obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada por el método estándar (Extracción básica y precipitación ácida).
- ❖ Obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada por extracción con cloruro de sodio y precipitación por micelización.

1.5.1.- OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA POR EL MÉTODO ESTÁNDAR

La figura 1-9, muestra el diagrama de flujo del proceso de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada por método estándar (Extracción básica y precipitación ácida) (Munive, P. 2009).

Figura 1-9: Diagrama de flujo de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada por método estándar



Fuente: Munive, P. 2009.

El método de extracción estándar de aislado de proteína de harina de soya desengrasada consta de dos etapas que son:

➤ **Extracción básica**

La extracción de la proteína de harina de soya desengrasada se lleva a cabo de la siguiente manera: primeramente se realiza una suspensión con una relación harina-agua 1:10 (p/v), y se ajusta a un rango de pH de 8 a 9,5 con NaOH 6N "pero por los resultados que obtuvieron en los ensayos observaron que es conveniente trabajar con un rango de pH de 8 a 9 porque a un rango superior la proteína tiende a desnaturalizarse", luego se agita 30 min a temperatura ambiente en un agitador mecánico de hélice Fisher scientific, para separar la proteína extraída del residuo se centrifuga a 12000 rpm (30 min, 4°C), y se recupera el sobrenadante (fase líquida superior que aparece cuando uno centrifuga una muestra, de modo que cuando uno lo saca de la centrifuga queda el sobrenadante arriba y un precipitado abajo que es el residuo insoluble que contiene principales polisacáridos insolubles que se eliminan por centrifugación incluyendo la fibra) (Munive, P. 2009).

➤ **Precipitación ácida**

La precipitación ácida de las proteínas aisladas se realiza en el sobrenadante de la extracción básica para ello se regula el pH a 4,5 con HCl 6N, lo cual provoca la precipitación de las proteínas en su punto isoeléctrico. Luego este "cuajo" de proteínas se centrifuga a 12000 rpm (30 min, 4°C), obteniéndose dos fracciones: El sobrenadante que es desechado y una pasta proteica o precipitado ácido que puede ser secado inmediatamente o lavado con agua destilada hasta alcanzar un pH próximo al neutro, y finalmente es secado por liofilización o bien por atomización (Munive, P. 2009).

Basado en este método de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada **Medrano en 1990**, realizó pruebas de optimización en la extracción de aislado de proteína de harina de soya desengrasada; basado en este autor **Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009**, describen cómo realizar las pruebas de optimización mediante la determinación del

número de extracciones en aislados de proteína de quinua y cañahua y nos presenta la condición óptima de aislar proteínas de la siguiente manera:

Pruebas de optimización

a) Determinación del número de extracciones

Explica primeramente que se suspende harina desengrasada de quinua y cañahua en agua destilada (10 % p/v), se agrega sulfito de sodio 0,5 % p/p y ajustamos a pH 9 con NaOH 1N y 0,5N para solubilizar las proteínas, agitar la suspensión por 60 minutos a temperatura ambiente y procedemos a filtrar ,obteniéndose así una parte líquida y otra parte sólida que es resuspendida nuevamente en agua destilada (con la mitad del volumen inicial de la primera extracción) y ajustado a pH 9 con NaOH 1 N y 0,5 N, el cual es agitado por 60 minutos a temperatura ambiente y posteriormente filtrado, obteniéndose así la segunda extracción. La muestra sólida obtenida de la segunda extracción es tratada como en la primera extracción, obteniéndose así la tercera extracción. Cada sobrenadante obtenido por separado en la primera, segunda y tercera extracciones ajustado a pH 4,5 con H₃PO₄ al 10% para precipitar las proteínas, luego procedemos a separar con un kitasato las proteínas precipitadas; seguidamente se realiza el lavado de las proteínas aisladas con agua destilada, y se procede a secar en una estufa eléctrica con convección de aire por 13 horas en un rango de temperatura entre 30-35°C, en tanto que para el producto con sulfito de sodio. El producto obtenido presenta una coloración de amarilla a blanca, además de presentar una solidificación menor, lo que permite inferir una menor degradación térmica y oxidativa de las proteínas aisladas. Para posteriormente evaluar el porcentaje de proteína aislada por gravimetría (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009).

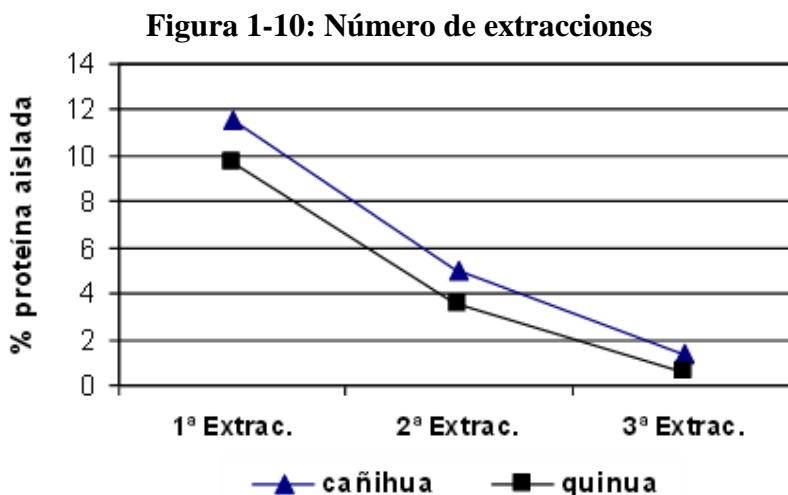
La determinación del número de extracciones, para obtener aislados proteicos de la quinua y cañahua, se realizaron pruebas obteniendo los resultados: Tabla (I-7), figura (1-10).

Tabla I-7: Determinación del número de extracciones

Muestra	Porcentaje proteína aislada			% Total
	1^{ra} Extracción	2^{da} Extracción	3^{ra} Extracción	

Quinua	9,65	3,55	0,58	13,78
Cañahua	11,56	5,02	1,41	17,99

Fuente: Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009.



Fuente: Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009.

Por los resultados obtenidos en la segunda y tercera extracción, que muestran una disminución significativa (de tipo exponencial) en los porcentajes de proteína aislada, permiten concluir que bastan dos extracciones para aislar las proteínas con un buen rendimiento (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009).

b) Condición óptima para aislar proteínas

Las condiciones más favorables para aislar las proteínas a partir de harina desengrasada los resultados obtenidos se resumen en (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009).

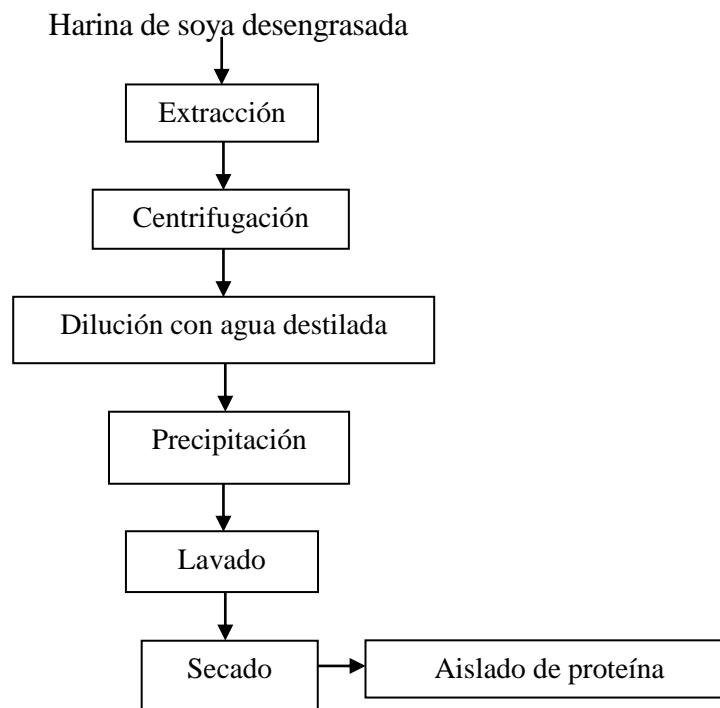
- La solubilización alcalina con sulfito de sodio 0,5% (p/p) entre un rango de pH 8,0-8,9; durante 60 minutos a temperatura ambiente y agitación continua.
- El número de extracciones aconsejable es de dos extracciones.
- Precipitación ácida es recomendable en un rango de pH 4,5-5,3” porque a un pH por debajo de 4,0 la apariencia física de la proteína cambia considerablemente precipitando en forma de agregados o grumos”, con un tiempo de reposo de 15 a 20 minutos a temperatura ambiente.
- Secado en una estufa a una temperatura de 30-35°C con un tiempo de secado de 13

horas.

1.5.2.- OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA POR EXTRACCIÓN CON CLORURO DE SODIO Y PRECIPITACIÓN POR MICELIZACIÓN

En la figura (1-11), se muestra el diagrama de flujo del proceso de obtención de aislados de proteína de harina de soya desengrasada por extracción con cloruro de sodio y precipitación por micelización.

Figura 1-11: Diagrama de flujo del proceso de obtención de aislados de proteína de harina de soya desengrasada por extracción con cloruro de sodio y precipitación por micelización



Fuente: Robles, M. y Mora, R. 2007.

Este método también está compuesto por dos etapas que son la extracción con cloruro de sodio y precipitación por micelización las cuales se describen a continuación.

La primera etapa es una extracción con solución de NaCl 0.8M a pH 7, en una proporción harina-solvente de 1:10 (p/v). Después de la extracción, la suspensión se centrifuga a 10,000

rpm durante 30 min. Para lograr la micelización de las proteínas el extracto proteínico se diluye con agua destilada fría (4°C) y posteriormente se precipita a pH 4.5, El precipitado se lava dos veces con agua destilada (Robles, M. y Mora, R. 2007).

Luego los aislados se secan por el proceso de liofilización el cual se realiza en una cámara de vacío para ello primeramente se congela el producto y posteriormente se introduce en una cámara de vacío para realizar la separación del agua por sublimación, de esta manera se elimina el agua desde el estado sólido al gaseoso sin pasar por estado líquido (Robles, M. y Mora, R. 2007).

Comparación de resultados y discusión de los métodos

En la tabla I-8, se muestran el rendimiento y la pureza de los aislados de proteína de harina de soya desengrasada obtenidos por los dos diferentes métodos de extracción. El método más efectivo para la extracción de proteína fue el método estándar que consta de dos etapas extracción básica y precipitación ácida con (58.32% de rendimiento y 90,09% de pureza comparado con 35.09% de rendimiento y 85,90% de pureza con el método de extracción con NaCl y precipitación por micelización). El perfil de los aislados lavados con agua después de la precipitación isoelectrica no difirió del perfil del aislado no lavado (Robles, M. y Mora, R. 2007).

Tabla I-8: Rendimiento y pureza de aislados de proteína de soya obtenidos por diferentes métodos de extracción

Método			
Estándar		Extracción con NaCl y precipitación por micelización	
R (%)	P (%)	R (%)	P (%)
58,32	90,09	35,09	85,90

Fuente: Robles, M. y Mora, R. 2007.

Donde:

R: Rendimiento (% de recuperación de proteína)

P: Pureza (% de proteína en base seca)

1.6.-MÉTODOS DE SECADO

El secado es un método de conservación de alimentos consistente en extraer el agua de éstos, lo que inhibe la proliferación de microorganismos y dificulta la putrefacción. El secado de alimentos mediante el sol y el viento para evitar su deterioro ha sido practicado desde la antigüedad. El agua suele eliminarse por evaporación (secado al aire, al sol, ahumado o al viento) pero, en el caso de la liofilización, los alimentos se congelan en primer lugar y luego se elimina el agua por sublimación (Chávez, G. 2009).

El método escogido depende del tipo de alimento que se va a deshidratar, el nivel de calidad que se puede alcanzar y el costo que se puede justificar (Chávez, G. 2009).

Según los autores (Robles, M. y Mora, R. 2007), (Munive, P. 2009) y (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009), de los procesos de obtención de aislados proteínicos los métodos para secar proteínas son:

➤ **Secado por atomización**

Es la transformación de una materia en forma líquida en forma seca atomizándola en un medio de aire caliente. Se realiza en una sola operación continua. La materia puede tener la forma de una solución, una suspensión o una pasta. El producto seco es un polvo que está compuesto de partículas o aglomerados, dependiendo todo de las propiedades físicas y químicas del producto de entrada y del diseño y operación del secador (Mondragón, R. 2008).

➤ **Secado por liofilización**

La liofilización o deshidrocongelación es un proceso en el que se congela el producto y posteriormente se introduce en una cámara de vacío para realizar la separación del agua por sublimación. De esta manera se elimina el agua desde el estado sólido al gaseoso del ambiente sin pasar por el estado líquido (Mondragón, R. 2008).

➤ **Secado por estufa**

Es uno de los métodos que también se utiliza para secar proteínas aisladas las cuales son llevadas en cajas petri (previamente pesadas) y son sometidas al proceso de secado en una estufa con convección de aire (Calisaya y Alvarado, 2009). El secado por vaporización o convección, se realiza pasando aire caliente sobre el producto. El aire es enfriado por el producto y la humedad es transferida hacia el aire (Mondragón, R. 2008).

1.7.-SELECCIÓN DEL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

Robles, M. y Mora, R. 2007. En su investigación realizada para la obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, en cuanto a la selección del método, realizaron una comparación de ambos métodos tomando en cuenta el rendimiento y la pureza de los aislados obtenidos; en él analizaron que con el método estándar (extracción básica y precipitación ácida) se tiene mejor rendimiento y pureza del producto en comparación con el método de “extracción con NaCl y precipitación por micelización” que se tuvo un bajo rendimiento y la pureza relativamente baja.

Por los motivos expuestos de forma precedente, el método seleccionado para el desarrollo del presente trabajo de investigación es el método de obtención de aislados de proteína de harina de soya desengrasada por el método estándar (extracción básica y precipitación ácida).

El proceso de secado adecuado para el secado de aislados de proteína de soya es por atomización o por liofilización ya que mantiene todas sus características físicas, químicas y organolépticas pero al no existir los equipos en nuestro medio, el secado del aislado de proteína de harina de soya desengrasada se realizará en una estufa de convección mecánica a una temperatura de 32,5°C; por último se procederá a moler las proteínas en un mortero de mazo, porque la cantidad extraída de proteína aislada es muy pequeña para realizar en un molino, por lo cual también no se realizará el tamizado correspondiente.

1.8.- CONCEPTOS BÁSICOS DE SECADO DE ALIMENTOS

A continuación se describen conceptos básicos involucrados en el proceso de secado de alimentos.

1.8.1.- SECADO

Se entiende por secado de alimentos la extracción deliberada del agua que contienen, operación que se lleva a cabo en la mayoría de los casos evaporando el agua por adicción de su calor latente de evaporación. Por tanto en la operación básica de secado intervienen dos factores importantes. Transmisión de calor, para suministrar el calor latente de evaporación necesario y el movimiento del agua o del vapor de agua a través del producto alimenticio y su separación del mismo (Chávez, G. 2009).

Los términos de secado y deshidratado se relacionan mucho, debido a que los dos se refirieren al proceso de eliminación de agua, la diferencia está en el contenido final. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, define como producto deshidratado al que no contiene más del 2.5% de agua (base seca) y como alimento seco todo aquel que ha sido expuesto a un proceso de eliminación de agua y que contiene más del 2.5% de ésta (Cánovas, G. y Mercado, H. 2000). Según (Mercado, G. y Cánovas, H. 2000), el calor requerido para el secado puede ser suministrado por convección, conducción y radiación. En el procesamiento de alimentos se puede utilizar tanto el secado directo como indirecto.

1.8.1.1.-TIPOS DE SECADO SEGÚN LA TRANSFERENCIA DE CALOR

Los tipos de secado por transferencia de calor son tres: Secado directo o por convección, secado indirecto o por conducción y secado por radiación (Mercado, G. y Cánovas, H. 2000).

❖ Secado directo o por convección

El calor se suministra a través de aire caliente o gas, el cual fluye sobre la superficie del sólido. El aire, los gases inertes, el vapor sobrecalentado, o gases de combustión directa pueden ser utilizados en sistemas de secado convectivos (Mujumdar, A. 2000).

❖ **Secado indirecto o por conducción**

El calor para evaporación se suministra a través de superficies calientes (estáticas o en movimiento) (Mujumdar, A. 2000).

El fluido, después de evaporar el agua del producto, pasa por un condensador para separar las sustancias evaporadas y se vuelve a calentar para utilizarse de nuevo. Se realiza así un circuito cerrado. Las únicas emisiones a la atmósfera son las de los gases procedentes de los focos de emisión de calor que se emplean en el intercambiador. Es un proceso de mayor eficacia medioambiental indicado para productos con sustancias volátiles de alta toxicidad (Mondragón, R. 2008).

❖ **Secado por radiación**

El secado por radiación se lleva a cabo mediante radiación electromagnética cuya longitud de onda se encuentra dentro del rango de espectro solar y microondas (Mujumdar, A. 2000).

No está muy extendido su uso a nivel industrial para biomasa, pero sí para aplicaciones donde tiene gran importancia la calidad del producto. Entre sus ventajas están que el secado es más rápido, el calentamiento es más uniforme, es más eficiente energéticamente y existe un mejor control del proceso (Mondragón, R. 2008).

1.8.1.2.-GENERALIDADES DE LAS CURVAS DE SECADO

Un proceso de secado es usualmente descrito por diagramas construidos con las siguientes coordenadas (Dávila, C. 2009).

1. Contenido de humedad del material contra tiempo de secado (curva de secado).
2. Velocidad de secado contra contenido de humedad del material (curva de velocidad del secado).
3. Temperatura del material contra contenido de humedad (curva de temperatura).

Para construir las curvas de secado los datos tabulados tiempo y la masa del alimento húmedo obtenidos experimentalmente se transforman en datos de tiempo y humedad en base seca. Para ello se usa la ecuación (1-1), según (Dávila, C. 2009).

$$H_{bs}(t) = \frac{m_t - m_{ss}}{m_{ss}} \quad (\text{Ecuación 1-1})$$

Donde:

$m(t)$ = Masa del alimento húmedo para cada tiempo (kg sólido húmedo)

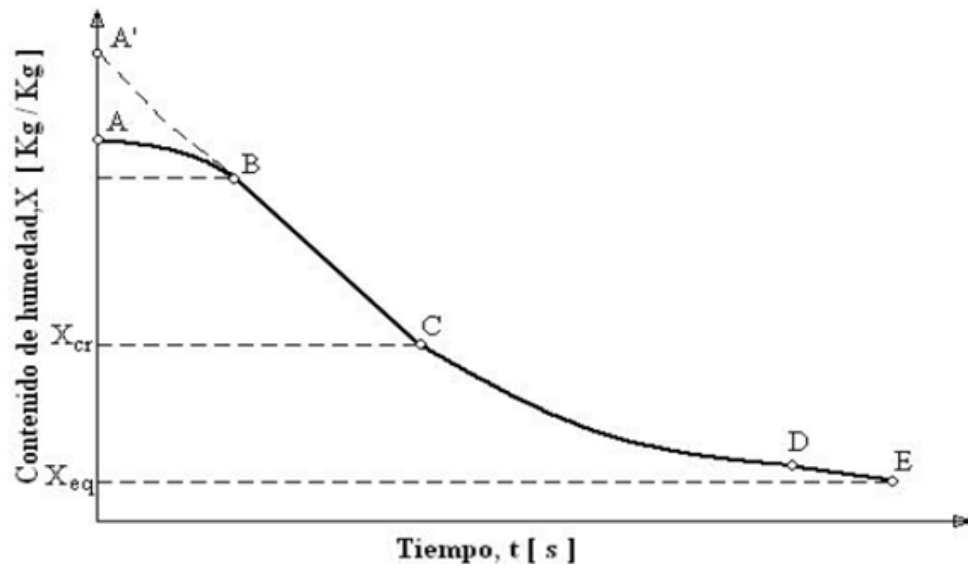
m_{es} = Masa del sólido seco (kg sólido seco)

$b_{ps}(t)$ = Humedad base seca al tiempo t (kg agua/ kg sólido seco).

Curva de Secado

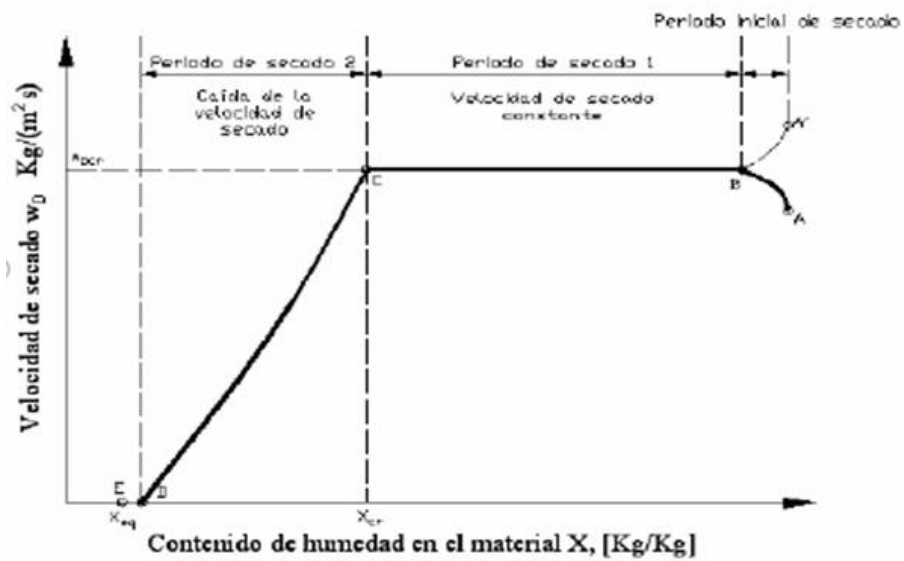
La figura (1-12), representa el caso general en que los sólidos húmedos pierden humedad, primero por evaporación desde la superficie saturada que tiene una área que gradualmente va disminuyendo, y por último cuando el agua del interior del sólido evapora. Resaltando cada punto de la figura (1-12) se ilustra el contenido de humedad del material a través del tiempo en el proceso de secado. En el periodo inicial de secado, el cambio de humedad en el material está ilustrado en la curva A-B. Al terminar este primer periodo el secado toma una forma lineal del tipo $X=f(t)$, en este periodo la velocidad de secado es constante (recta B-C). El secado se mantiene igual por un periodo de tiempo hasta que llega a un punto crítico (Punto C) donde la línea recta tiende a curvarse y a formar una asíntota con el contenido de humedad X_{eq} donde es el valor mínimo de humedad en el proceso de secado esto quiere decir que el punto E jamás es tocado (Dávila, C. 2009). La recta (B-C) es llamado el periodo de velocidad de secado constante, y al siguiente periodo de secado se conoce como el periodo de caída de velocidad del secado (Dávila, C. 2009).

Figura 1-12: Contenido de humedad en función del tiempo



Fuente: Dávila, C. 2009.

Figura 1-13: Velocidad de secado en función del contenido de humedad



Fuente: Dávila, C. 2009.

Estas curvas de velocidad de secado demuestran que el secado no es un proceso suave y continuo en el cual existe un solo mecanismo que ejerza el control a lo largo de toda su duración (Perry, R. y Green, D. 1996).

Descripción de las curvas de sacado.- Las curvas anteriores representan el proceso de secado a condiciones constantes. Empezando en el tiempo cero el contenido inicial de humedad libre corresponde al punto A; al principio el sólido suele estar a una temperatura inferior de la que tendrá al final y la velocidad de evaporación va en aumento; por el contrario, cuando el alimento está a una temperatura más elevada A, la velocidad de evaporación disminuye hasta llegar al punto B, en el cual, la temperatura de superficie alcanza su valor de equilibrio. Este periodo inicial de ajuste en estado estacionario suele ser bastante corto y por lo general se pasa por alto en el análisis de los tiempos de secado (Geankoplis, C. 1998; Treybal, R. 2001). La resta entre el punto B-C tiene una pendiente y velocidad constante. Durante este periodo, la superficie del sólido está muy húmeda al principio y sobre ella hay una película de agua continua. Esta capa de agua, es agua libre y actúa como si el sólido no estuviera presente. La velocidad de evaporación con las condiciones establecidas para el proceso, es independiente del sólido y esencialmente igual a la velocidad que tendría una superficie líquida pura. Si el sólido es poroso, la mayor parte de agua que se evapora durante el periodo de velocidad constante proviene de su interior (Geankoplis, C. 1998).

Este periodo continua mientras el agua siga llegando a la superficie con la misma rapidez con la que se evapora (Geankoplis, C. 1998).

Los periodos de velocidad decreciente inician en el punto crítico de humedad C, al concluir los periodos de velocidad constante. En este punto no hay suficiente agua en la superficie ya no está totalmente húmeda, y la porción húmeda comienza a disminuir durante **el periodo de velocidad decreciente hasta que la superficie queda seca en su totalidad, punto D.** aquí, el plano de evaporación comienza a desplazarse con lentitud por debajo de la superficie. El agua evaporada atraviesa el sólido para llegar hasta la corriente de aire. Es posible que la cantidad de humedad que se elimine durante este periodo sea bastante pequeña, pero aun así, el tiempo requerido puede ser largo (Geankoplis, C. 1998).

1.8.1.3.-FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE SECADO

La temperatura desempeña un papel importante en el proceso de secado. En forma general, conforme se incrementa su valor se acelera la eliminación de humedad dentro de los límites posibles. En la práctica de secado, la elección de la temperatura se lleva a cabo tomando en consideración a la especie que se vaya a someter al proceso (Ordoñez, N. 2007).

Existen diferentes valores de temperatura que se mantienen durante el proceso técnico de secado según (Perry, R. y Green, D. 1996), son:

- a) **TEMPERATURA DE BULBO SECO.**- Es la temperatura del ambiente, se mide con instrumentación ordinaria como un termómetro de mercurio.
- b) **TEMPERATURA DE BULBO HÚMEDO.**- Es la temperatura de equilibrio dinámico obtenida por una superficie de agua cuando la velocidad de transferencia de calor por convención, a la misma, es igual a la transferencia de masa que se aleja de la superficie.

1.8.1.4.-TIPOS DE HUMEDAD DE LOS ALIMENTOS

El agua contenida en un alimento está unida a él en formas que son el resultado de interacciones físicas y químicas. El contenido de agua de un alimento o humedad se refiere, en general, a toda el agua de manera global. Ya que el agua puede ser “agua libre” o “agua ligada”. Para fines de operación de secado podemos distinguir los siguientes casos (Torres, G. 2012).

❖ Humedad libre

Es la humedad en exceso que contiene un sólido sobre la humedad de equilibrio en condiciones dadas de temperatura y humedad (Torres, G. 2012).

Solo la humedad libre puede ser evaporada, lógicamente depende de la concentración del contenido de humedad (a través de la humedad de equilibrio) (Torres, G. 2012).

❖ Humedad ligada

Corresponde a la humedad contenida en un sólido, que ejerce una presión de vapor menor que la correspondiente al líquido puro a la misma temperatura (Torres, G. 2012).

El secado de esta agua es más difícil ya que la presión de vapor que ella ejerce es más baja que la que ejercería si estuviera pura. Ya que el agua ligada es aquella proporción que está fuertemente unida al alimento por medio de puentes de hidrógeno y no congela a -20°C , por lo que también se llama “agua no congelable” (Badui, A. 2006).

❖ **Humedad no ligada**

Representa la humedad contenida en un sólido, que ejerce una presión de vapor igual a la del agua pura a la misma temperatura (Badui, A. 2006).

1.8.1.5.-CONTENIDO DE HUMEDAD DE UN PRODUCTO

El contenido de humedad de un producto puede expresarse sobre la base del peso húmedo, es decir la masa de agua por unidad de masa de producto húmedo. Otra manera de expresar el contenido de humedad es en base al peso seco, es decir la masa de agua por unidad de masa de componentes sólidos desecados (Torres, G. 2012).

❖ **Contenido de humedad en base húmeda**

Es el cociente entre la masa de agua dentro del material y su masa total como se muestra en la ecuación (1-2), según (Martínez, E. y Lira, L. 2010).

$$H_{bh} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{kg de agua} + \text{kg de sólido seco}} \quad (\text{Ecuación 1-2})$$

Donde contenido de humedad H_{bh} según (Martínez, E. y Lira, L. 2010), se expresa mediante la ecuación (1-3).

$$H_{bh} = \frac{m_{H_2O}}{m_h} = \frac{m_h - m_{ss}}{m_h} \quad (\text{Ecuación 1-3})$$

Donde: la masa total (m_h) del material es igual a la suma de su masa seca (m_{ss}) y de su masa de agua (m_{H_2O}).

$$m_h = m_{SS} + m_{H_2O} \quad (\text{Ecuación 1-4})$$

❖ **Contenido de humedad en base seca:**

Es el contenido de humedad de un sólido húmedo referido a la masa seca del mismo sólido (Martínez, E. y Lira, L. 2010).

$$H_{bs} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{kg de sólido seco}}$$

El contenido de humedad H_{bs} se expresa mediante la siguiente ecuación matemática (1-5), según (Martínez, E. y Lira, L. 2010).

$$H_{bs} = \frac{m_{H_2O}}{m_{SS}} = \frac{m_h - m_{SS}}{m_{SS}} \quad (\text{Ecuación 1-5})$$

Donde:

m_h = Masa del sólido húmedo para cada tiempo (kg sólido húmedo)

m_{SS} = Masa del sólido seco (kg sólido seco)

H_{bs} = Humedad en base seca (kg agua/ kg sólido seco).

1.9.- EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación sensorial es una técnica de medición y análisis tan importante como los métodos químicos, físicos, microbiológicos, etc. Este tipo de análisis tiene la ventaja de que la persona que efectúa las mediciones lleva consigo sus propios instrumentos de análisis es decir sus cinco la vista, el olfato, el gusto y el oído son elementos idóneos para determinar el color, olor, aroma, gusto, sabor y la textura quienes aportan al buen aspecto y calidad al alimento que le dan sus propias características (Castañeda, C. 2013).

El análisis sensorial mide las respuestas de las personas hacia productos alimenticios, para poder cuantificar las percepciones y medir las respuestas de los consumidores se utilizan

las escalas que son fundamentales dentro del análisis sensorial. Una escala es un sistema que envuelve la asignación de valores numéricos y/o verbales a percepciones sensoriales (Castañeda, C. 2013).

La escala más utilizada en la evaluación de alimentos es la escala hedónica de nueve puntos que fue desarrollada por el U.S Army Food Container Institute en 1950. Los rangos de los números van desde uno a nueve, siendo uno “disgusta extremadamente”, cinco “ni me gusta ni me disgusta” y nueve “gusta extremadamente”. Esta escala fue rápidamente adaptada por la industria de alimentos e investigación por su simplicidad de uso (Castañeda, C. 2013).

Los métodos empleados para analizar los datos obtenidos son los principales métodos entre ellos (Castañeda, C. 2013):

- ❖ Representación gráfica
- ❖ Distribución binominal
- ❖ Análisis de varianza, ANOVA
- ❖ Análisis secuencial
- ❖ Análisis multivariado
- ❖ Análisis de ordenamiento por rangos
- ❖ Regresión
- ❖ Análisis de factor

Actualmente se emplean paquetes estadísticos que agilizan el trabajo y la consecución de los resultados, para elegir un paquete estadístico, se debe tener en cuenta algunos aspectos como: (Castañeda, C. 2013).

- ❖ Que sean para capturar datos sensoriales
- ❖ Facilidad en su uso
- ❖ Usuarios con o sin experiencia
- ❖ Costos

Algunos de los paquetes estadísticos que se encuentran en el mercado son: GEANSTAT, COMPUSENSE, MINITAB, SAS, S-PLUS, SPSS, SYSTAT, STAT-GRAPHICS, SENSTAT y SENPAK (Castañeda, C. 2013).

2.1.- INTRODUCCIÓN

La parte experimental del trabajo de investigación “obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada”, se realizó en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

2.2.- DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

Antes de realizar la parte experimental se seleccionó la harina de soya desengrasada que se aproxima más en la propiedad fisicoquímica de porcentaje de proteína total a la harina de soya desengrasada según bibliografía. Para ello se adquirió dos muestras de harina de soya desengrasada una harina de soya desengrasada adquirida del Mercado Campesino de la ciudad de Tarija y la segunda harina de soya desengrasada fue adquirida de la Empresa Montecristo S.A.

En la figura 2-1, se muestran las harinas de soya desengrasada adquiridas del Mercado Campesino de la ciudad de Tarija y de la Empresa Montecristo S.A.

Figura 2-1

Harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

Para realizar la selección de la harina de soya desengrasada más adecuada para realizar la parte experimental, se determinó la propiedad fisicoquímica de porcentaje de proteína total de las dos harinas en el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID), dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. En la tabla II-1, se muestran los resultados obtenidos de la propiedad fisicoquímica del porcentaje de proteína total de las dos harinas adquiridas ver (Anexo A.1.1 y Anexo A.1.2) y el valor de porcentaje de proteína total de la harina de soya desengrasada que se encuentra en bibliografía según (INORCA, 2015).

Tabla II-1

Harina de soya desengrasada adquirida del mercado campesino y Empresa Montecristo S.A. y harina de soya desengrasada según bibliografía

Porcentaje de proteína total de harina de soya desengrasada		
Mercado Campesino*	Empresa Montecristo S.A.*	Dato Bibliografía^o
37,34	40,25	52,8-59,00

Fuente: CEANID*, 2015; INORCA^o, 2015.

En la tabla II-1, se observa que la harina adquirida del Mercado Campesino presentó el más bajo porcentaje de proteína total del 37,34 en comparación de la harina de soya desengrasada adquirida de la Empresa Montecristo S.A. que presentó un porcentaje de proteína total del 40,25. Por lo cual se optó a utilizar la harina de soya desengrasada procedente de la empresa Montecristo S.A de la ciudad de Tarija para realizar la parte experimental de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada porque tiene mayor porcentaje de proteína total en comparación con la harina de soya desengrasada adquirida del Mercado Campesino y se aproxima un poco más en porcentaje de proteína total a la harina de soya desengrasada según bibliografía que presenta un porcentaje de proteína total entre (52,8-59,00). Y se descartó la harina de soya desengrasada procedente del Mercado Campesino.

Por lo que se concluye que la materia prima que se utilizó en el trabajo de investigación fue la harina de soya desengrasada adquirida de la Empresa Montecristo S.A. de la ciudad de Tarija.

2.3.- REACTIVOS QUÍMICOS

En la tabla II-2, se detallan las sustancias químicas y en la figura 2-2, se muestran los reactivos químicos utilizados para el proceso de obtención experimental de aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla II-2

Reactivos químicos para el proceso de obtención experimental de aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Sustancias	Concentración	Estado
Hidróxido de sodio	1N	líquido
Ácido clorhídrico	1N	líquido
Sulfito de sodio	-----	sólido
Agua destilada	-----	líquido

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2-2

Reactivos químicos



Fuente: Elaboración propia.

2.4 DESCRIPCIÓN DE EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y MATERIAL DE LABORATORIO UTILIZADOS EN LA OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

A continuación se describen los equipos, instrumentos utilizados en la obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

2.4.1 EQUIPOS DE LABORATORIO

Los equipos de laboratorio que se utilizaron para llevar a cabo el trabajo de investigación se describen a continuación.

❖ **Balanza analítica digital**

En la figura 2-3, se muestra la balanza analítica digital, que se utilizó para el control de peso, en toda la investigación de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada. Las especificaciones técnicas de este equipo, se describen en la tabla II-3.

Tabla II-3
Especificaciones de la balanza analítica digital

Características	Detalles
Modelo	ABS 220-4
N° de serie	WB1210334
Potencia	0,22Kw
Capacidad	220g
Legibilidad	0,1mg

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2-3
Balanza analítica



Fuente: Elaboración propia.

❖ **Agitador magnético**

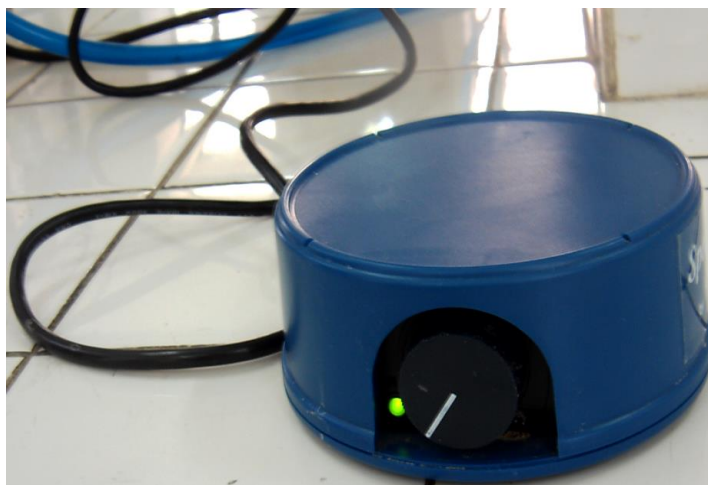
Este equipo se utilizó para agitar las disoluciones en el trabajo de investigación de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada. En la figura 2-4, se muestra el agitador magnético el cual se utilizó en el trabajo de investigación de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada. Las especificaciones técnicas se describen en la tabla II-4.

Tabla II-4
Especificaciones del agitador magnético

Características	Detalles
Marca	Thermolyne
Potencia	850W
Rango de velocidad	100-1500rpm
Potencia de calefacción	1000W
Control de velocidad	Escala 0-6
Tensión	230/120/100V
Frecuencia	50/60/Hz

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2-4
Agitador magnético



Fuente: Elaboración propia.

❖ Centrifuga

En la figura 2-5, se muestra la centrífuga que se utilizó en el proceso de separación sólido-líquido, en el proceso de extracción, precipitación y lavado de la proteína extraída. En la tabla II-5, se describen las especificaciones técnicas de este equipo.

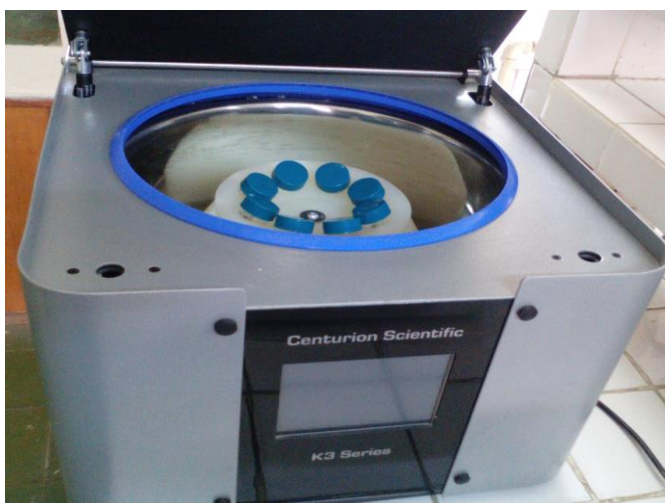
Tabla II-5

Especificaciones técnicas de la centrífuga

Características	Detalles
Marca	Centurión scientific
Modelo	K2015K
Tensión	230V
Nº de serie	213582
Potencia	380w
Velocidad máxima	7000 rpm
Frecuencia	50-60Hz
Tipo	T10A

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2-5
Centrifuga



Fuente: Elaboración propia.

❖ Estufa eléctrica

En la figura 2-6, se muestra la estufa eléctrica que se utilizó en el proceso de secado del aislado de proteína de harina de soya desengrasada. La estufa consta de un regulador de temperatura que va desde (0 a 100) °C. La distribución del calor en su interior es por convección mecánica. Las especificaciones técnicas de la estufa eléctrica, se describen en la tabla II-6.

Tabla II-6
Especificaciones técnicas de la estufa eléctrica

Características	Detalles
Marca	Napco
Modelo	320
Tensión	120V
Potencia	265W
N° de código	C96415-01-t
Serie	MSW

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2-6
Estufa eléctrica



Fuente: Elaboración propia.

2.4.2 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

Los instrumentos de laboratorio que se utilizaron durante el desarrollo del presente trabajo de investigación son los siguientes.

❖ Termómetro de vidrio

Este instrumento, es empleado para medir la temperatura y se utilizó durante el proceso de extracción y secado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada.

❖ pH-metro digital

En la figura 2-7, se muestra el pH-metro digital que se utilizó en la etapa de extracción, precipitación y lavado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada.

Figura 2-7: pH-metro digital



Fuente: Elaboración propia.

2.4.3.- MATERIAL DE LABORATORIO

El material de laboratorio utilizado durante la parte experimental del trabajo de investigación, se detalla en la tabla II-7.

Tabla II-7: Material de laboratorio

Descripción	Capacidad/tamaño	Cantidad	Tipo
Caja Petri	10 cm de diámetro	8	vidrio
Cucharilla	pequeña	1	metal
Espátula	Pequeña	1	metal
Desecador	grande	1	vidrio
Matraces aforado	250 ml	2	vidrio
Vaso de precipitado	500 ml	3	vidrio
Probeta	250 ml	1	plástico
Recipiente	4000 ml	1	plástico
Pipeta graduada	1 ml	1	vidrio
Pipeta graduada	5 ml	1	vidrio
Mortero	pequeño	1	porcelana
Bolsas	pequeño	27	plástico
Frasco ámbar	pequeño	18	vidrio

Guantes	pequeño	50	látex
Barbijo	pequeño	25	tela

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 2-8, se muestra el material de laboratorio utilizado en el trabajo de investigación.

Figura 2-8: Material de laboratorio



Fuente: Elaboración propia.

2.5.- DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental es una técnica estadística, que tiene como objetivo definir una serie de pruebas en las cuales existen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema. De tal manera que sea posible observar e identificar las causas de los cambios que se producen en la respuesta de salida. De tal modo que el investigador obtenga estimaciones con la mayor precisión posible (Quiroga, M. 2011).

2.5.1.- PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

Para llevar a cabo el diseño experimental se tomaron en cuenta las siguientes hipótesis

- Existe diferencia en cuanto a los niveles de variación en el pH de extracción.
- Existe diferencia en cuanto a los niveles de variación en el pH de precipitación.
- Existe variación en la interacción entre ambos factores.

Nivel de significación: 0,05 (95%)

Por lo tanto el diseño corresponde a un modelo experimental 3^2 que consta de dos factores con tres niveles cada uno. Donde hay $3^2=9$ combinación de tratamiento y existe 8 grados de libertad entra ellas. Los efectos principales A y B tienen dos grados de libertad cada uno, y la intersección AB tiene cuatro grados de libertad. Si hay n réplicas habrá un total de $[n \cdot 3^2 - 1]$ grados de libertad, correspondiendo para error $3^2(n - 1)$ grados de libertad (Montgomery, D. 1991).

Por lo tanto el diseño experimental corresponde a un modelo experimental 3^2 . compuesto por tres niveles y por dos variables o factores.

Factor pH_{Hex}: pH de extracción

Factor pH_{pp}: pH de precipitación

El número de experimentos realizados son:

N°exp = N°niveles fpH_{Hex}*N°nivelesfpH_{pp}*repeticiones

N°exp=3*3*2=18

La tabla II-8, representa la matriz de diseño experimental 3^2 para la obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla II-8: Matriz de diseño experimental 3^2 para la obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada

N°de ensayos	Variables		Combinación	Respuesta I	Respuesta II
	pH extracción (pH _{Hex})	pH precipitación (pH _{pp})	(pH _{Hex} -pH _{pp})	Y _{ijk}	Y _{ijk}
1	-1	-1	+1	Y ₁₁₁	Y ₁₁₂
2	0	-1	0	Y ₂₁₁	Y ₂₁₂
3	+1	-1	-1	Y ₃₁₁	Y ₃₁₂
4	-1	0	0	Y ₁₂₁	Y ₁₂₂
5	0	0	0	Y ₂₂₁	Y ₂₂₂
6	+1	0	0	Y ₃₂₁	Y ₃₂₂
7	-1	+1	-1	Y ₁₃₁	Y ₁₃₂
8	0	+1	0	Y ₂₃₁	Y ₂₃₂

9	+1	+1	+1	y ₃₃₁	y ₃₃₂
---	----	----	----	------------------	------------------

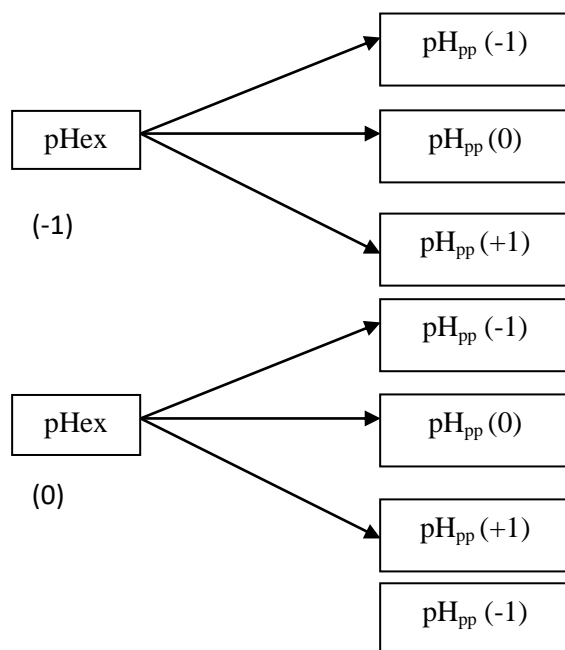
Fuente: Elaboración propia.

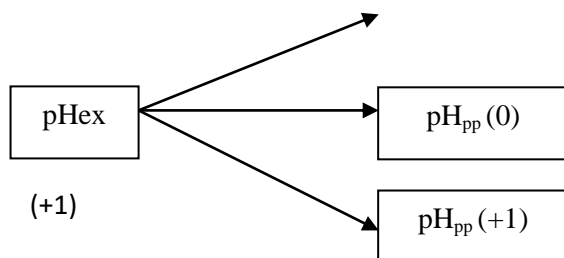
Donde: y_{ijk} = variable respuesta = porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada obtenido en cada ensayo.

También este diseño puede ser representado por un algoritmo factorial como se muestra en la figura 2-9, utilizado para las variables pH de extracción y pH de precipitación para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Figura 2-9

Algoritmo factorial en el proceso de extracción, para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada





Fuente: Elaboración propia.

Tomando en cuenta como variable respuesta el porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada extraída en forma experimental.

2.5.2 FACTORES DE ESTUDIO DE DISEÑO EXPERIMENTAL 3^2 PARA LA OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

Los niveles y factores que se tomaron en cuenta en la obtención experimental de aislado de proteína de harina de soya desengrasada se aprecian en la tabla II-9.

Tabla II-9

Niveles de variación de los factores para la obtención experimental de aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Factores	Mínimo	Medio	Máximo
pH de extracción	(-1)	(0)	(+1)
pH de precipitación	(-1)	(0)	(+1)

Fuente: Elaboración propia.

2.6.-DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL DE OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

Antes de realizar las pruebas de extracción de aislado de proteína de harina de soya

desengrasada, se procedió a realizar pruebas preliminares a nivel experimental, para determinar el número de extracciones en el proceso de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, para obtener mejor rendimiento.

2.6.1.- DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE EXTRACCIONES

Para determinar el número de extracciones en el proceso de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, se realizaron cuatro extracciones que se indican a continuación.

➤ Primera extracción

Para realizar estas pruebas se procedió a preparar una mezcla disolviendo 20 gramos de harina de soya desengrasada en 200 ml de agua destilada, agregando 0,1 gramos de sulfito de sodio y ajustamos a pH 9,0 con NaOH 1N según (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009) (que es el óptimo en la extracción) para solubilizar las proteínas, luego se procedió a agitar la suspensión durante una hora y 30 minutos, a temperatura ambiente, luego se procedió a centrifugar a (6667 rpm durante 20 min a 4°C) donde se separó en un extracto acuoso y residuo sólido obtenido de la primera extracción.

➤ Segunda extracción

Luego el residuo sólido de la primera extracción fue redissuelto nuevamente en 150 ml de agua destilada y ajustamos a pH 9,0 con NaOH 1N, el cual se agitó por una hora en el agitador magnético a temperatura ambiente y posteriormente se procedió a separar por centrifugación a (6667 rpm por 20 min a 4°C), obteniéndose así la segunda extracción.

➤ Tercera extracción

Luego el residuo sólido de la segunda extracción fue redissuelto en 100 ml de agua destilada y ajustamos a pH 9,0 con NaOH 1N, el cual se agitó 30 minutos en el agitador magnético a temperatura ambiente y posteriormente se procedió a separar por centrifugación a (6667 rpm durante 20 min a 4°C), obteniéndose así la tercera extracción.

➤ Cuarta extracción

El residuo obtenido de la tercera extracción es redissuelto en 50 ml de agua destilada y ajustamos a pH 9,0 con NaOH 1N, el cual se agitó 15 minutos en el agitador magnético a temperatura ambiente y posteriormente se procedió a separar por centrifugación a (6667 rpm durante 20 min a 4°C), obteniéndose así la cuarta extracción.

Después de cada sobrenadante obtenido por separado en la primera, segunda, tercera y cuarta extracción fue ajustada a pH 4,5 con HCl 1N para precipitar las proteínas. Luego procedemos a separar por centrifugación las proteínas precipitadas del extracto acuoso, seguidamente se lavan las proteínas aisladas con agua destilada hasta un pH entre 6,5 y 6,8 próximo al neutro que es 7,0. Luego el extracto de proteína se procedió a secar en una estufa de convección mecánica a 32,5°C; posteriormente el extracto seco de proteína es llevado a un sistema de molienda utilizando un mortero de mazo para posteriormente realizar el análisis del porcentaje de proteína aislada por método gravimétrico.

En la tabla, II-10, se muestran los porcentajes de proteína extraída de cada extracción, para determinar el porcentaje de proteína aislada que se determinó mediante la ecuación (2-1), según (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009).

$$PPA = \left(\frac{(\text{g})\text{proteína aislada total}}{\text{peso muestra (g)}} \right) * 100 \quad (\text{Ecuación 2-1})$$

Donde:

PPA = porcentaje de proteína aislada

Peso proteína aislada total (g)= Es el peso real que tuvo en cada extracción

Peso muestra (g)= Peso de la muestra es decir de la harina de soya desengrasada (20g).

Tabla II-10

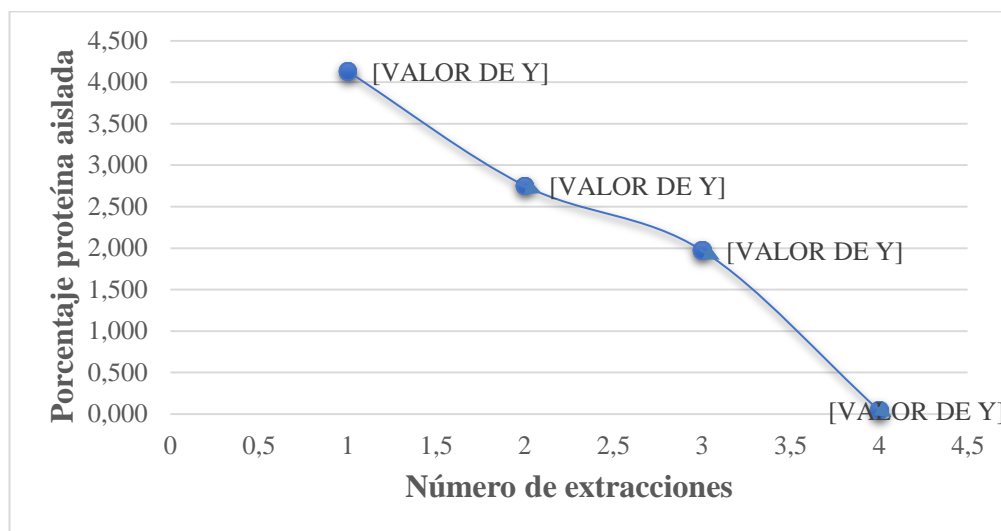
Porcentajes de proteína extraída de cada extracción

Número de extracciones	Proteína aislada de harina de soya desengrasada	
	(g)	(%)
1	0,8264	4,132
2	0,5504	2,752
3	0,3944	1,972
4	0,0084	0,042

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 2-10, se muestra las extracciones de la primera, segunda, tercera y cuarta extracción, donde se indica que los resultados obtenidos en la tercera y cuarta extracción hay una disminución significativa en los porcentajes de proteína aislada, por lo cual se permite concluir que bastan tres extracciones para aislar las proteínas con un buen rendimiento.

Figura 2-10: Número de extracciones para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

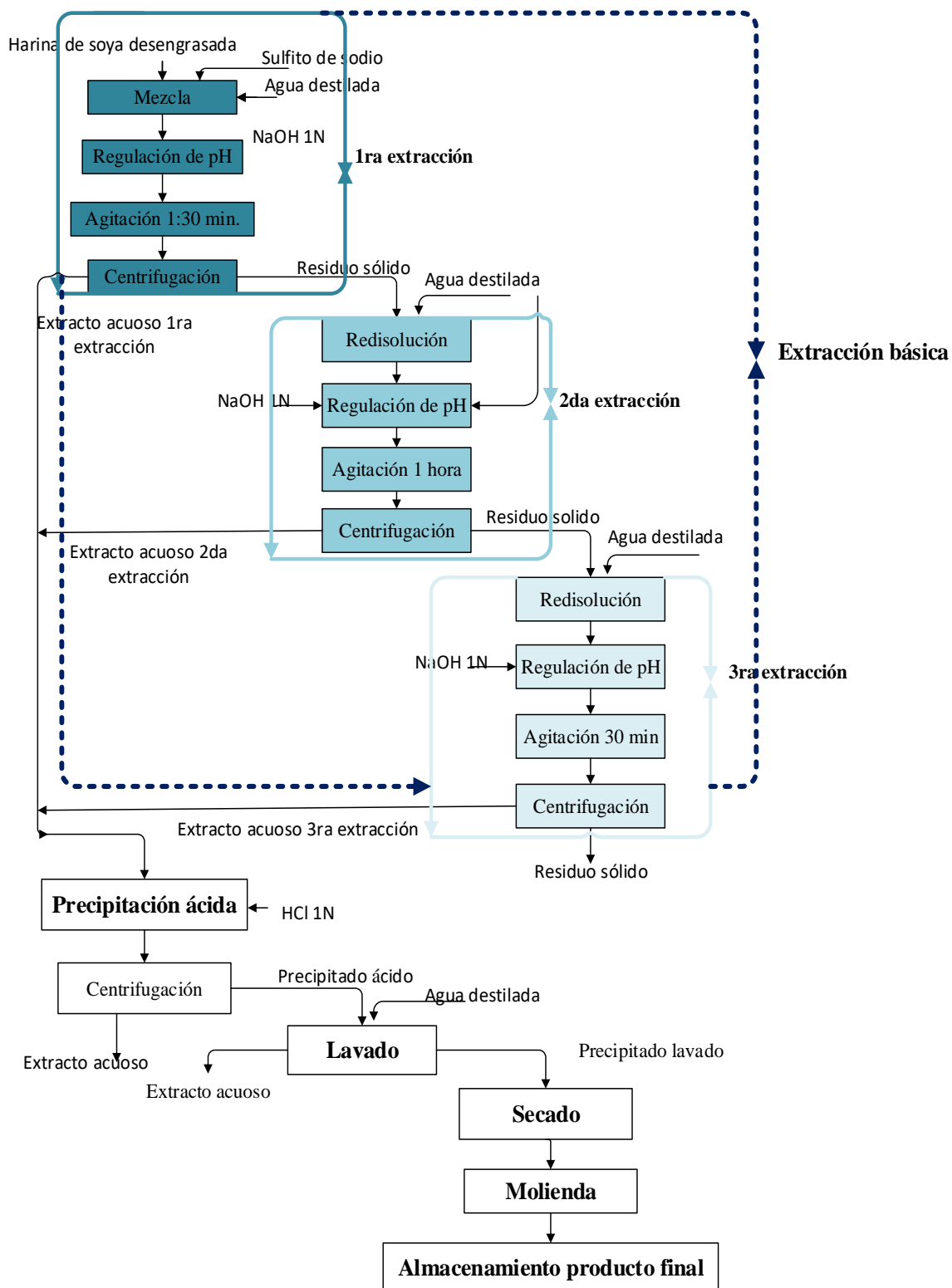


Fuente: Elaboración propia.

Una vez que determinamos el número de extracciones para la optimización del proceso trabajamos con tres extracciones.

La figura 2-11, muestra el diagrama de flujo del proceso de obtención a escala laboratorio de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, que fue adaptado por (Munive, P. 2009).

Figura 2-11: Diagrama de flujo del proceso de obtención experimental de aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

2.6.2 HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La harina de soya que se utilizó para realizar la parte experimental fue la harina de soya

desengrasada (figura 2-12), que fue adquirida de la Empresa Montecristo S.A de la ciudad de Tarija.

Figura 2-12

Harina de soya desengrasada de la Empresa Montecristo S.A.



Fuente: Elaboración propia.

2.6.3 EXTRACCIÓN BÁSICA

El proceso de la extracción de la proteína aislada de harina de soya desengrasada después de determinar el número de extracciones para la optimización del proceso se trabajó con tres etapas de extracción.

❖ *Primera extracción*

El proceso de la primera extracción se realizó de acuerdo a los siguientes pasos:

- a) Para el proceso de la primera extracción primeramente se preparó una mezcla donde se colocó 20 gramos de harina de soya desengrasada en un vaso de precipitado de 500 ml en el cual se añadió 200 ml de agua destilada, y se agitó suavemente mediante una espátula hasta una disolución, luego se añadió 0,1gramos de antioxidante (bisulfito de sodio).
- b) Se reguló a pH 8,0; pH 9,2 y pH 11,0 con NaOH 1N, para solubilizar las proteínas como se muestra en la figura 2-13.

Figura 2-13

Solubilización de las proteínas



Fuente: Elaboración propia.

- c) El proceso de agitación se realizó en un agitador magnético en un periodo de una hora y 30 minutos como se muestra en la figura 2-14.

Figura 2-14: Agitación de la disolución



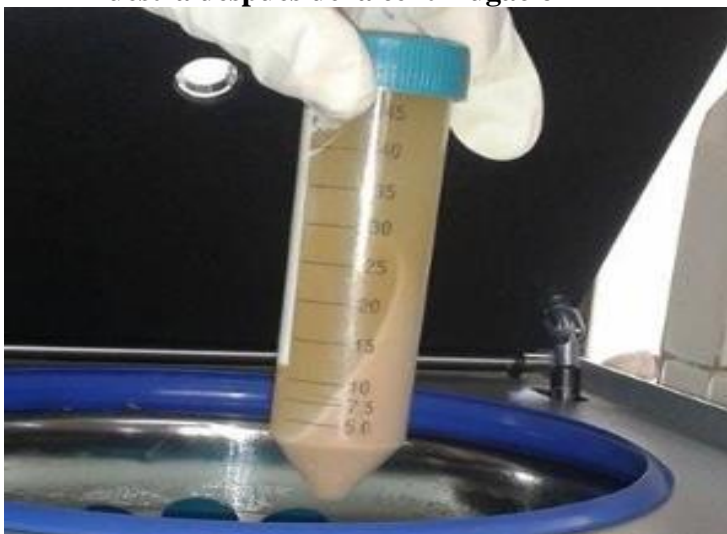
Fuente: Elaboración propia.

- d) El proceso de centrifugación se realizó a 6667 rpm por 20 minutos a 4°C, este proceso se realizó con el fin de recuperar el sobrenadante (fase líquida separación que aparece cuando se centrifuga una muestra), de modo que cuando lo sacamos de la centrífuga

queda el sobrenadante arriba y un precipitado (residuo sólido) abajo tal como se muestra en la figura 2-15.

Figura 2-15

Muestra después de la centrifugación



Fuente: Elaboración propia.

❖ Segunda extracción

En la segunda etapa de extracción el residuo sólido obtenido en la primera etapa de extracción se redisuelve en 150 ml de agua destilada, esta extracción comprende los mismos pasos que en la primera extracción que son:

- Se ajustó a pH 8,0; pH 9,2 y pH 11,0 con NaOH 1N para solubilizar las proteínas; en este caso se necesitaba menor cantidad de NaOH 1N porque el residuo sólido de la primera extracción se está recirculando.
- El proceso de agitación se realizó en un agitador magnético; esta segunda etapa de extracción se agitó en un periodo de una hora.
- El proceso de centrifugación se realizó en las mismas condiciones de la primera extracción obteniéndose una fase líquida (sobrenadante) y un residuo sólido que se recircula para la tercera extracción.

❖ Tercera extracción

En la tercera etapa de extracción se redisolvió el residuo sólido de la segunda etapa de extracción en 100 ml de agua destilada y se procedió a realizar los mismos procesos que en la

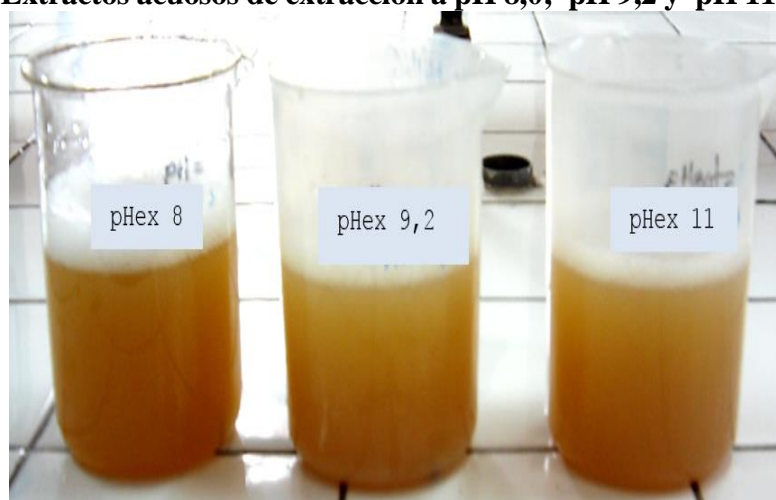
segunda etapa de extracción, solo con la diferencia que el tiempo de agitación, se realizó en un periodo de 30 minutos, obteniéndose así una fase líquida y otra sólida que es desechada.

2.6.4 PRECIPITACIÓN ÁCIDA

La precipitación ácida de la proteína se realizó, en los sobrenadantes mezclados de la primera, segunda y tercera extracción este proceso comprende de las siguientes etapas:

- a) Las muestras de extractos acuosos de las extracciones a pH 8,0; pH 9,2 y pH 11,0; se muestran en la figura 2-16.

Figura 2-16
Extractos acuosos de extracción a pH 8,0; pH 9,2 y pH 11,0



Fuente: Elaboración propia.

Cada una de estas muestras se ajustó a pH 3,0; pH 4,5 y pH 5,0 con HCL 1N para precipitar las proteínas de harina de soya desengrasada, como se muestra en la figura 2-17.

Figura 2-17: Precipitación de las proteínas extraídas



Fuente:

Elaboración propia.

Las figuras (2-18 a), (2-18 b) y (2-18 c), muestran las combinaciones de las muestras de pH de extracción con los pH de precipitación.

Figura 2-18 a
pH de extracción 8,0; pH 9,2 y pH 11,0 con pH de precipitación 5,0



Figura 2-18 b
pH de extracción 8,0; pH 9,2 y pH 11,0 con pH de precipitación 4,5

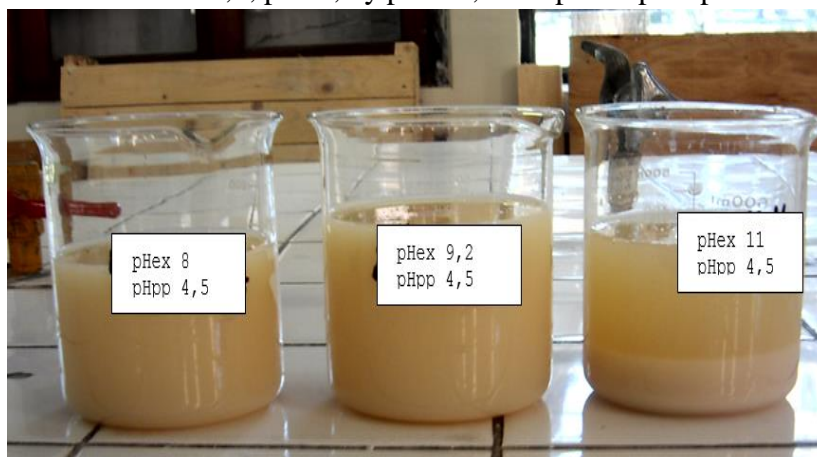
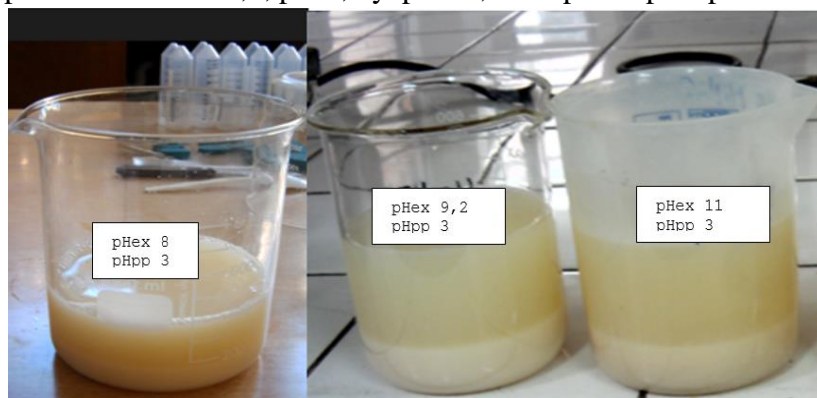


Figura 2-18 c
pH de extracción 8,0; pH 9,2 y pH 11,0 con pH de precipitación 3,0

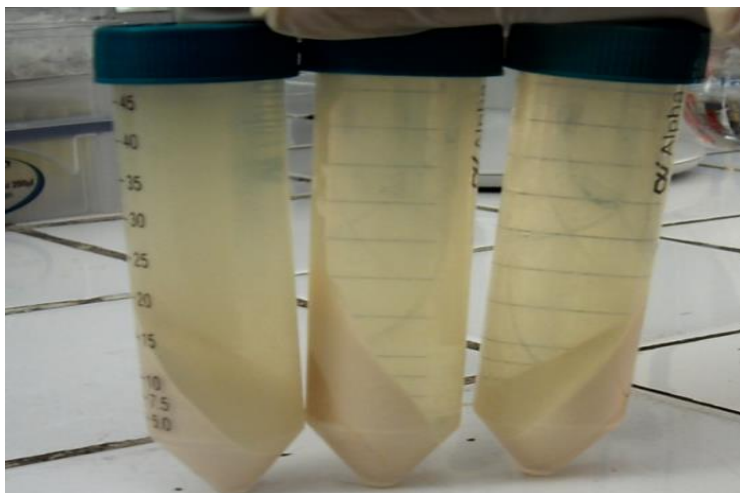


Fuente: Elaboración propia.

- b) Centrifugación: una vez que se ajustó el pH de precipitación de cada una de las muestras se dejó en reposo durante 20 minutos, para una mejor separación. Luego

se centrifugó a 6667 rpm durante 20 minutos a 4°C. obteniéndose dos fracciones el sobrenadante (extracto acuoso) que fue desechado y una pasta proteica (precipitado ácido), como se muestra en la figura 2-19.

Figura 2-19
Muestra después de la centrifugación



Fuente: Elaboración propia.

2.6.5.- LAVADO

El proceso de lavado de las proteínas aisladas se realizó con agua destilada hasta un pH próximo al neutro; para ello se realizó tres lavados, con 70 ml de agua destilada en cada lavado y agitando durante 20 minutos en el agitador magnético a temperatura ambiente. La separación de la proteína lavada se realizó por centrifugación a 6667 rpm por 20 minutos a 4°C.

2.6.6.- SECADO

El proceso de secado de las proteínas aisladas de harina de soya desengrasada, es una de las etapas más críticas, debido a la degradación térmica y oxidativa que pueden sufrir las proteínas. Para ello el proceso de secado se realizó a 32,5°C en una estufa de convección mecánica porque a una temperatura por debajo de los 30°C los aislados son propensos a desarrollar microorganismos (mohos), y por encima de los 35°C la proteína es susceptible a la degradación térmica y oxidación (Calisaya, J. y Alvarado, J. 2009). Se secó en un tiempo de

14 horas aproximadamente hasta obtener una humedad menor del 10%, según (Norma Boliviana NB 313023: 2012, que debe tener este producto) (INORCA, 2015). En la figura 2-20, se muestra el secado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada.

Figura 2-20
Secado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada



Fuente:

Elaboración propia

2.6.7 MOLIENDA

Luego de la etapa de secado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada, se realizó la molienda de la proteína aislada seca, debido a la pequeña cantidad de aislado de proteína que se obtenía entre 0,612g y 3,051g se procedió a moler en un mortero de mazo hasta obtener un producto de tamaño de partícula homogéneo, como se puede observar en la figura 2-21.

Figura 2-21: Molienda de la proteína aislada



Fuente: Elaboración propia.

2.6.8 ALMACENAMIENTO DEL PRODUCTO FINAL

El aislado de proteína de harina de soya desengrasada obtenido experimentalmente, fue almacenado, como se puede observar en la figura 2-22, en frascos pequeños de vidrio con tapón de goma, para evitar la variación del contenido de humedad y descomposición del producto.

Figura 2-22: Producto final aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

3.1 ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA Y PRODUCTO FINAL

Los análisis que se llevaron a cabo en la materia prima y producto final se detallan a continuación:

❖ Análisis fisicoquímico de la materia prima y producto final

Los análisis fisicoquímico se realizaron en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), dependiente de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”, de acuerdo al siguiente detalle:

- Determinación porcentual de proteína total en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación porcentual de materia grasa en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación porcentual de fibra en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación porcentual de cenizas en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación porcentual de húmeda en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación porcentual de carbohidratos en la harina de soya desengrasada y en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

❖ Análisis microbiológico del producto final

El análisis microbiológico del aislado de proteína de harina de soya desengrasada, se realizó en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), dependiente de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”, de acuerdo al siguiente detalle:

- Determinación en ufc/g, de coliformes totales en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación en ufc/g, de coliformes termo resistentes en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.
- Determinación en ufc/g, de mohos y levaduras en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

3.1.1.-RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA

La tabla III-1, muestra los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico (Anexo A.1.1) de la harina de soya desengrasada como materia prima para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada, y la composición que se encuentra como referencia en bibliografía.

Tabla III-1
Composición de la harina de soya desengrasada

Tipo de harina de soya Características	harina de soya desengrasada*	Harina de soya desengrasada (Dato Bibliografía)''
Proteína total (%)	40,25	52,8-59,00
Materia grasa (%)	1,64	Maximo 2
Fibra (%)	5,26	2,5-5,00
Cenizas (%)	7,44	5,0-8,00
Humedad (%)	6,60	6,0-11,00
Carbohidratos (mg/kg)	38,56	30,00-34,55

Fuente: CEANID*, 2015; Liu, K''. 1999.

En la tabla III-1, se aprecia que el contenido de proteína total de la harina de soya desengrasada que se utilizó en el trabajo de investigación de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, es menor de los límites que señala (Liu, K. 1999); el contenido de materia grasa, cenizas y humedad se encuentran dentro de los límites que señala (Liu, K. 1999); el contenido de fibra y carbohidratos es mayor a los datos que señala (Liu, K. 1999). De acuerdo al porcentaje de proteína total analizada en la harina de soya desengrasada se señala que en nuestro país se produce una harina de bajo porcentaje de proteína total en comparación con lo que indica en bibliografía, respecto a lo cual también se obtendrá un bajo índice de proteína en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

3.2.- DETERMINACIÓN DEL pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La combinación de pH de extracción y pH de precipitación, se realizó con el objetivo de determinar cuánto se obtiene de porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada de cada combinación y cómo influye en la desnaturalización y oxidación de la proteína. Este proceso consistió en ajustar el pH de extracción entre (8,0-9,2-11,0) de pH con NaOH 1N, para tres diferentes pH de precipitación que se ajustaron con HCl 1N y los cuales son detallados a continuación.

pH de extracción 8,0:	pHpp= pH de precipitación 3,0
	pHpp= pH de precipitación 4,5
	pHpp= pH de precipitación 5,0
pH extracción 9,2:	pHpp= pH de precipitacion 3,0
	pHpp= pH de precipitacion 4,5
	pHpp= pH de precipitacion 5,0
pH extracción 11,0:	pHpp= pH de precipitacion 3,0
	pHpp= pH de precipitacion 4,5
	pHpp= pH de precipitacion 5,0

De la misma forma, se realizó una evaluación sensorial del atributo color, olor y sabor para los tres diferentes tipos de pH de extracción en función de los pH de precipitación y de esta manera evaluar la preferencia de los jueces.

3.2.1 EVALUACIÓN SENSORIAL PARA ESTABLECER EL pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

Tomando en cuenta las condiciones del proceso de extracción de las proteínas de harina de soya desengrasada, que fueron utilizadas en la influencia del pH de extracción y pH de precipitación. Se procedió a tomar en cuenta las nueve muestras a nivel experimental con las siguientes características.

- M1=pH de extracción de 8 y pH precipitación de 3,0

- M2=pH de extracción de 8 y pH precipitación de 4,5
- M3=pH de extracción de 8 y pH precipitación de 5,0
- M4=pH de extracción de 9,2 y pH precipitación de 3,0
- M5=pH de extracción de 9,2 y pH precipitación de 4,5
- M6=pH de extracción de 9,2 y pH precipitación de 5,0
- M7=pH de extracción de 11 y pH precipitación de 3,0
- M8=pH de extracción de 11 y pH precipitación de 4,5
- M9=pH de extracción de 11 y pH precipitación de 5,0

En tal sentido, se realizó una evaluación sensorial en escala hedónica. Utilizando 14 jueces no entrenados que evaluaron los atributos color, olor y sabor en una escala hedónica.

3.2.1.1 EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ATRIBUTO COLOR EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La tabla III-2, muestra los resultados de la evaluación sensorial del atributo color en el proceso de extracción para obtener el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla III-2

Evaluación sensorial de atributo color para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Jueces	Muestras (Escala hedónica)
--------	----------------------------

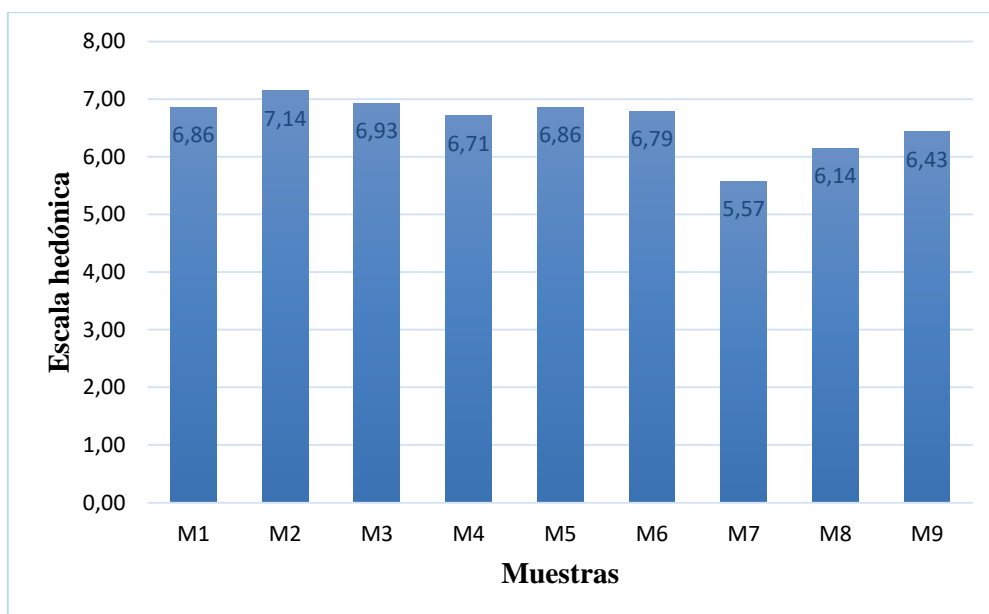
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
1	8	7	7	8	7	7	5	5	5
2	7	7	7	7	7	6	7	7	7
3	7	8	7	7	7	6	6	7	6
4	6	7	8	6	7	7	6	6	7
5	7	7	7	7	8	6	5	7	5
6	6	7	6	6	6	7	6	6	7
7	7	8	7	7	7	7	5	7	6
8	7	7	7	8	7	8	6	6	7
9	8	7	8	6	6	6	5	7	6
10	6	8	6	7	8	7	5	5	7
11	7	7	7	7	6	7	6	6	8
12	7	7	7	6	7	8	5	5	6
13	6	7	6	6	7	6	5	7	6
14	7	6	7	6	6	7	6	5	7
ΣTOTAL	96	100	97	94	96	95	78	86	90
Promedio	6,86	7,14	6,93	6,71	6,86	6,79	5,57	6,14	6,43

Fuente: Elaboración propia.

La figura 3-1, muestra los resultados promedio de la evaluación sensorial para el atributo color de datos extraídos de la tabla III-2.

Figura 3-1

Valores promedio de atributo color para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3-1, se observa que la muestra de mejor aceptación para los jueces fue la muestra (M2), de pH 8,0 de extracción y pH 4,5 de precipitación, con un puntaje promedio de 7,14 como la mejor opción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada según el atributo color.

3.2.1.1.1 PRUEBA DE DUNCAN DEL ATRIBUTO COLOR PARA DETERMINAR EL pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

En la tabla III-3, se muestra los resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo color, bajo el Spss versión 19.

Tabla III-3: Resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo color

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	32,238 ^a	21	1,535	3,075	0,000
Intersección	5493,841	1	5493,841	11004,478	0,000
Jueces	5,937	13	0,457	0,915	0,541
Muestras	26,302	8	3,288	6,585	0,000
Error	51,921	104	0,499		
Total	5578,000	126			
Total corregida	84,159	125			

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-3, se puede observar que las muestras (tratamientos), son significativos para un $p < 0,05$.

En la tabla III-4, se muestra la prueba estadística de Duncan del atributo color, basado en la significancia entre tratamientos (muestras), en base a la tabla (III-3).

Tabla III-4: Prueba estadística de Duncan del atributo color

Muestras	Número de jueces	Subconjunto			
		1	2	3	4
M7	14	5,5714			
M8	14		6,1429		
M9	14		6,4286	6,4286	
M4	14			6,7143	6,7143
M6	14			6,7857	6,7857
M1	14			6,8571	6,8571
M5	14			6,8571	6,8571
M3	14			6,9286	6,9286
M2	14				7,1429
Sig.		1,000	0,287	0,105	0,166

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-4, se observa que la muestra de mejor aceptación según el atributo color es la muestra M2 de (pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5), con un puntaje de 7,1429.

3.2.1.2 EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ATRIBUTO OLOR EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La tabla III-5, muestra los resultados de la evaluación sensorial del atributo olor en el proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla III-5

Evaluación sensorial de atributo olor para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

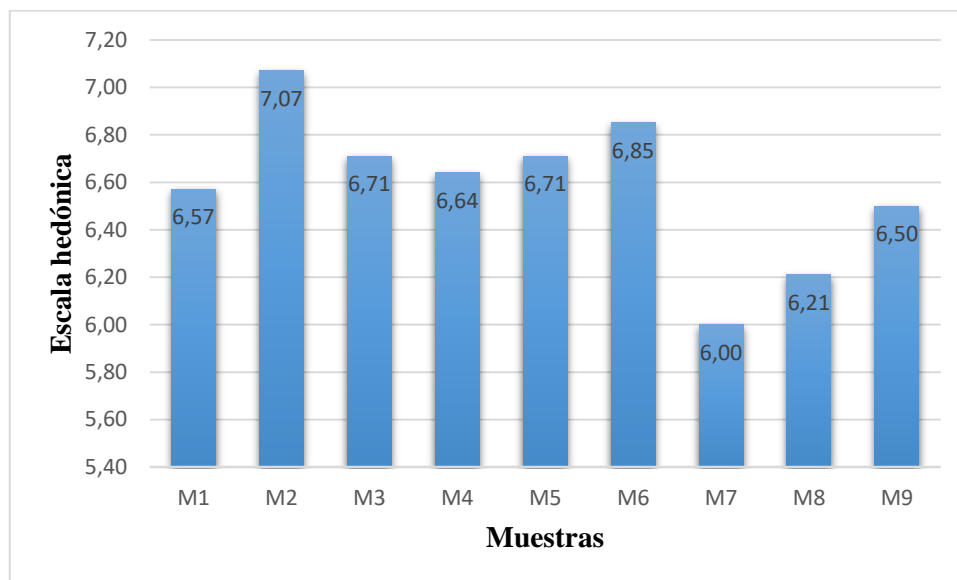
Jueces	Muestras (Escala hedónica)								
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
1	7	8	7	8	7	8	5	5	5
2	6	7	6	7	6	7	6	6	7
3	7	7	7	6	6	6	6	7	7
4	7	8	7	6	7	7	5	6	6
5	6	7	7	5	7	7	7	6	7
6	7	6	6	7	8	8	6	6	6
7	8	7	6	7	6	6	6	7	6
8	7	7	7	6	6	6	7	6	6
9	7	6	8	6	7	7	7	6	7
10	6	7	6	7	7	8	7	7	7
11	6	8	7	8	8	6	6	5	5
12	5	7	7	7	7	7	5	7	8
13	7	6	6	7	6	6	6	7	7
14	6	8	7	6	6	7	5	6	7
ΣTOTAL	92	99	94	93	94	96	84	87	91
Promedio	6,57	7,07	6,71	6,64	6,71	6,86	6,00	6,21	6,50

Fuente: Elaboración propia.

La figura 3-2, muestra los resultados promedio de la evaluación sensorial para el atributo olor de datos extraídos de la tabla III-5.

Figura 3-2

Valores promedio de atributo olor para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3-2, se observa que la muestra de mejor aceptación para los jueces fue la muestra (M2), de pH 8,0 de extracción y pH 4,5 de precipitación, con un puntaje promedio de 7,07 como la mejor opción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada según el atributo olor.

3.2.1.2.1 PRUEBA DE DUNCAN DEL ATRIBUTO OLOR PARA DETERMINAR EL pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

En la tabla III-6, se muestra los resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo olor, bajo el Spss versión 19.

Tabla III-6: Resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo olor

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	15,770 ^a	21	0,751	1,333	0,172
Intersección	5480,643	1	5480,643	9728,846	0,000
Jueces	3,913	13	0,301	0,534	0,898
Muestras	11,857	8	1,482	2,631	0,011
Error	58,587	104	0,563		
Total	5555,000	126			
Total corregida	74,357	125			

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-6, se puede observar que las muestras (tratamientos), son significativos para un $p < 0,05$.

En la tabla III-7, se muestra la prueba estadística de Duncan del atributo olor, basado en la significancia entre tratamientos (muestras), en base a la tabla (III-6).

Tabla III-7: Prueba estadística de Duncan del atributo olor

Muestras	Número de jueces	Subconjunto		
		1	2	3
M7	14	6,0000		
M8	14	6,2143	6,2143	
M9	14	6,5000	6,5000	6,5000
M1	14	6,5714	6,5714	6,5714
M4	14		6,7143	6,7143
M3	14		6,7143	6,7143
M5	14		6,7143	6,7143
M6	14		6,8571	6,8571
M2	14			7,0714
Sig.		0,068	0,051	0,085

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-7, se observa que la muestra de mejor aceptación según el atributo olor es la muestra M2 de (pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5), con un puntaje de 7,0714.

3.2.1.3 EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ATRIBUTO SABOR EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La tabla III-8, muestra los resultados de la evaluación sensorial del atributo sabor en el proceso de extracción para obtener el aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla III-8

Evaluación sensorial de atributo sabor para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

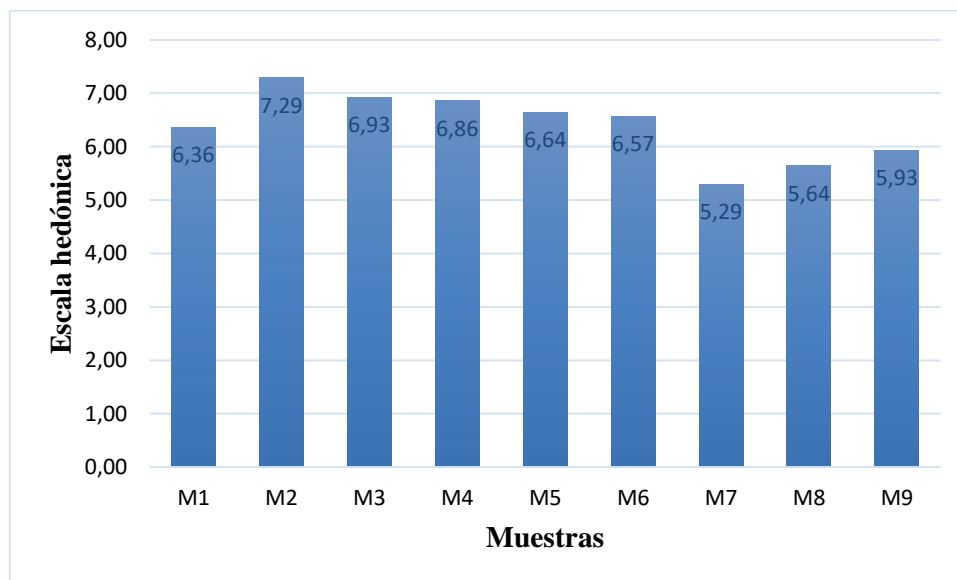
Jueces	Muestras (Escala hedónica)								
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
1	7	8	8	8	8	7	5	5	5
2	5	7	6	6	7	6	6	6	6
3	7	8	7	7	7	6	5	6	5
4	6	7	8	7	6	7	6	5	6
5	7	7	7	7	7	6	5	6	7
6	5	8	6	8	8	7	4	6	6
7	7	8	7	6	6	7	6	7	6
8	6	8	7	7	7	6	5	5	5
9	7	6	8	7	6	8	6	5	6
10	6	7	7	7	7	6	5	5	7
11	6	7	6	6	5	6	4	6	5
12	7	8	7	7	6	7	6	6	6
13	8	6	7	6	7	6	6	5	7
14	7	7	6	7	6	7	5	6	6
ΣTOTAL	89	102	97	96	93	92	74	79	83
Promedio	6,36	7,29	6,93	6,86	6,64	6,57	5,29	5,64	5,93

Fuente: Elaboración propia.

La figura 3-3, muestra los resultados promedio de la evaluación sensorial para el atributo sabor de datos extraídos de la tabla III-8.

Figura 3-3

Valores promedio de atributo sabor para definir la muestra extraída para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3-3, se observa que la muestra de mejor aceptación para los jueces fue la muestra (M2), de pH 8,0 de extracción y pH 4,5 de precipitación, con un puntaje promedio de 7,29 como la mejor opción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada según el atributo sabor.

3.2.1.3.1 PRUEBA DE DUNCAN DEL ATRIBUTO SABOR PARA DETERMINAR EL pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

En la tabla III-9, se muestra los resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo sabor, bajo el Spss versión 19.

Tabla III-9: Resultados de la prueba estadística de Fisher del atributo sabor

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	56,738 ^a	21	2,702	5,240	0,000
Intersección	5168,643	1	5168,643	10025,147	0,000
Jueces	9,024	13	0,694	1,346	0,199
Muestras	47,714	8	5,964	11,568	0,000
Error	53,619	104	0,516		
Total	5279,000	126			
Total corregida	110,357	125			

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-9, se puede observar que las muestras (tratamientos), son significativos para un $p < 0,05$.

En la tabla III-10, se muestra la prueba estadística de Duncan del atributo sabor, basado en la significancia entre tratamientos (muestras), en base a la tabla (III-9).

Tabla III-10: Prueba estadística de Duncan del atributo sabor

Muestras	Número de jueces	Subconjunto			
		1	2	3	4
M7	14	5,2857			
M8	14	5,6429	5,6429		
M9	14		5,9286		
M1	14			6,5000	
M6	14			6,5714	
M5	14			6,6429	
M4	14			6,8571	6,8571
M3	14			6,9286	6,9286
M2	14				7,2857
Sig.		0,191	0,295	0,165	0,139

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-10, se observa que la muestra de mejor aceptación según el atributo sabor es la muestra M2 de (pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5), con un puntaje de 7,2857.

De acuerdo a los jueces que calificaron cada una de las muestras respecto a los atributos color, olor y sabor dieron un resultado como prueba de mejor aceptación la muestra M2 de (pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5) como producto final seleccionado. Realizado en base a los promedios de puntuación y prueba estadística de Duncan que dieron un puntaje de 7,1429 en el atributo color como resultado de la (figura (3-1) y tabla (III-4)), atributo olor con 7,0714 (figura (3-2) y tabla (III-7)) y atributo sabor con 7,2857 (figura (3-3) y la tabla (III-10)).

3.3.- DISEÑO EXPERIMENTAL EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

El diseño experimental, se realizó con el propósito de establecer los factores que tienen mayor influencia en el proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada. Asimismo, se utilizó el algoritmo factorial 3^2 (figura 2-9); tomando en cuenta las variables de pH de extracción (8,0; 9,2 y 11,0) y pH de precipitación (5,0; 4,5 y 3,0).

La tabla III-11, muestra los resultados del porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada extraída en forma experimental, datos extraídos de la tabla D.2-1 (Anexo D.2), de la variable respuesta del proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Tabla III-11: Porcentaje de aislado de proteína de la variable respuesta del diseño experimental en el proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

pH de precipitación		pH de extracción						Total (Y _i)
		pHex						
		8,0		9,2		11,0		
pH _{pp}	3,0	7,55	14,8	7,90	15,36	15,3	30,48	60,6
		7,24		7,46		15,2		
	4,5	5,42	10,70	6,55	11,66	13,7	27,21	
		5,27		5,11		13,5		
	5,0	3,18	6,24	5,01	9,75	12,3	23,99	
		3,06		4,74		11,7		
Total (Y _j)		31,72			36,77		81,68	150,0

Fuente: Elaboración propia.

3.3.1.- PRUEBA ESTADÍSTICA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

La tabla III-12, muestra los resultados del análisis de varianza del diseño experimental 3^2 , para la variable respuesta (porcentaje de aislado de proteína) de datos extraídos de la tabla D.2-2 (Anexo D.2) para un $p < 0,05$.

Tabla III-12

Análisis de varianza del diseño experimental 3^2 en el proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Fuente de variación (FV)	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrados medios (CM)	Fcal	Ftab
SS(T)	290,57	17			
SS(pHex)	252,14	2	126,07	787,94*	4,26
SS(pHpp)	35,6	2	17,8	111,25	4,26
SS(pHex-pHpp)	1,35	4	0,34	2,13	3,63
SS(E)	1,48	9	0,16		

Fuente: Elaboración propia.

*Altamente significativo

La tabla III-12, muestra que existe diferencia estadística altamente significativa, para el pH de extracción $SS(pHex)$; $F_{cal}(787,94) > F_{tab}(4,26)$ y diferencia estadística significativa para el pH de precipitación $SS(pHpp)$; $F_{cal}(111,25) > F_{tab}(4,26)$. Sin embargo, para la interacción (pHex-pHpp) $SS(pHex-pHpp)$ no existe diferencia significativa; ya que $F_{cal}(2,13) < F_{tab}(3,63)$. Para un límite de confianza del 95%.

En cuanto se refiere al diseño experimental 3^2 , en el proceso de extracción para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada se estableció que el (pH de extracción) es altamente significativo y (pH de precipitación) significativo. Es decir que el pH de extracción tiene mayor influencia en el proceso de obtención de aislado de proteína de harina de soya desengrasada en comparación con el pH de precipitación que tiene influencia pero es de menor significancia.

3.4.- RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DEL PRODUCTO FINAL

A continuación se presentan los resultados del análisis fisicoquímico y microbiológico del producto final.

3.4.1.- PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL PRODUCTO FINAL

La tabla III-13, muestra los resultados del análisis fisicoquímico del producto final de datos obtenidos del Anexo A 1.3, y la composición que se encuentra como referencia en la norma boliviana (NB 31 3023:2012), “productos proteínicos de soya-especificaciones (correspondiente al CODEX STAN 175:1989)” (INORCA, 2015).

Tabla III-13: Propiedades fisicoquímicas del aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Tipo de aislado características	Aislado de proteína de harina de soya desengrasada (Experimental)*	Aislado de proteína (Dato Bibliografía)[↑]
Proteína total (%)	64,45	Mínimo 90
Materia grasa (%)	8,70	-
Fibra (%)	4,90	Máximo 5,0
Cenizas (%)	2,94	Máximo 8,0
Humedad (%)	6,47	Máxima 10,0
Carbohidratos (%)	12,54	-

Fuente: CEANID*, 2015; IBNORA[↑]. 2015.

Como se aprecia en la tabla III-13, las características físico-químicas del aislado de proteína de harina de soya desengrasada obtenido experimentalmente presento un bajo índice de proteína total obtenido (64,45%), debido a que la materia prima también presento un bajo contenido de proteína total del (40,25%). El porcentaje de fibra (4,90%), cenizas (2,94%) y humedad (6,47%), que se determinaron en el aislado de proteína de harina de soya desengrasada se encuentran dentro de los rangos permitidos por la norma boliviana. Excepto que el valor de porcentaje de grasa (8,70%), obtenido no hay valor alguno en la norma Bolivia para su respectiva comparación.

3.4.2.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO FINAL

En la tabla III-14, muestra los resultados del análisis microbiológico del producto final de datos obtenidos del Anexo A 1.3, y criterios microbiológicos que debe tener este producto según la norma boliviana (NB/32015: 2005) (Mendoza, H. 2013).

Tabla III-14: Análisis microbiológico del producto final y criterios microbiológicos según la norma boliviana

Tipo de aislado Parámetros	Aislado de proteína de harina de soya desengrasada (Experimental)*	Aislado de proteína (Dato Bibliografía)[†]
Coliformes totales (Ufc/g)	<10(*)	Mínimo <10
Coliformes termoresistentes (Ufc/g)	<10(*)	Mínimo <10
Mohos y levaduras (Ufc/g)	5,0x10³	Mínimo 10 ⁴

Fuente: CEANID*, 2015; Mendoza, H[†]. 2013.

Como se aprecia en la tabla III-14, el aislado de proteína de harina de soya desengrasada obtenido experimentalmente presenta Coliformes totales <10(*) Ufc/g, Coliformes termoresistentes <10(*) Ufc/g y 5,0x10³ Ufc/g de mohos y levaduras cuyos valores se encuentran dentro de los rangos permitidos según los criterios microbiológicos que debe tener este producto según la norma boliviana (NB/32015: 2005) (Mendoza, H. 2013).

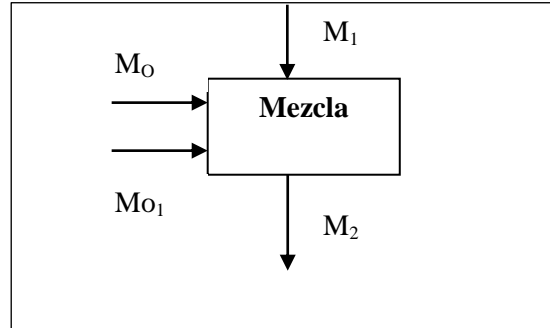
3.5.- BALANCE DE MATERIA PARA OBTENER AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA DESENGRASADA

El balance de materia se realizó solamente en aquellas etapas que lo requieren, es decir en aquellos casos en los que existe diferencia de masa en la salida respecto de la entrada. Para realizar el balance se tomó como una base de cálculo de 20 g de harina de soya desengrasada a nivel experimental.

3.5.1.-BALANCE DE MATERIA EN LA MEZCLA

La figura 3-4, muestra el balance de materia en la mezcla realizada para la primera extracción.

Figura 3-4: Balance de materia en la mezcla realizada para la primera extracción



Donde:

M_0 = Masa de harina que ingresa = 20g

M_{01} = Masa de agua que ingresa = 200 ml * 0,9816g/ml = 196,32g

M_1 = Masa de sulfito de sodio = 0,1g

M_2 = Masa de la mezcla de la disolución = ?

Balance de materia en la mezcla

$$M_0 + M_{01} + M_1 = M_2 \quad (\text{Ecuación 3-1})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-1), tenemos:

$$M_2 = 20g + 196,3 g + 0,1g$$

$$M_2 = 216,42g \text{ de mezcla de la disolución}$$

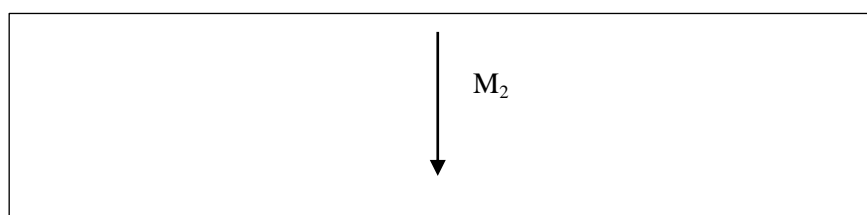
3.5.2-BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

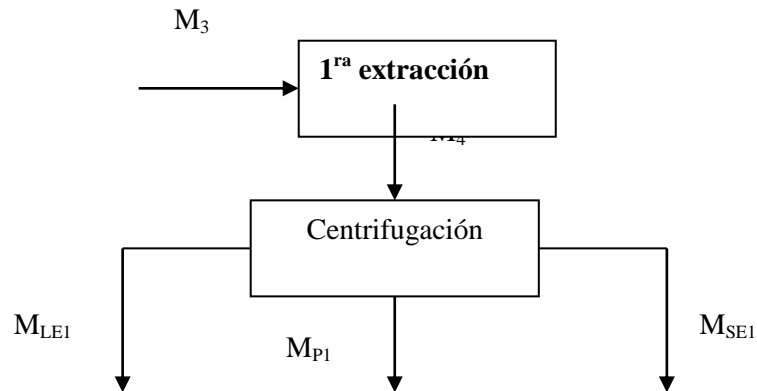
El balance de materia se realizó en cada una de las tres etapas de extracción.

➤ BALANCE DE MATERIA EN LA PRIMERA ETAPA DE EXTRACCIÓN

La figura 3-5, muestra el balance de materia en la primera etapa de extracción.

Figura 3-5: Balance de materia en la primera etapa de extracción





Donde:

$$M_3 = \text{Masa de NaOH 1N} = 3,5 \text{ ml} * \frac{1,001 \text{ g}}{\text{ml}} = 3,5035 \text{ g}$$

$$M_4 = \text{Mezcla (1ª extracción)} = ?$$

$$M_{LE1} = \text{Masa extracto líquido (1ª extracción)} = 149,9 \text{ g}$$

$$M_{SE1} = \text{Masa extracto sólido (1ª extracción)} = 69,6 \text{ g}$$

$$M_{P1} = \text{Masa de mezcla que se pierde al centrifugar (1ª extracción)} = ?$$

Balance de materia en la primera etapa de extracción

$$M_2 + M_3 = M_4 \quad \text{(Ecuación 3-2)}$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-2), tenemos:

$$M_4 = 216,42 \text{ g} + 3,50 = 219,92 \text{ g de mezcla en la (1ª extracción)}$$

$$M_4 = M_{LE1} + M_{P1} + M_{SE1} \quad \text{(Ecuación 3-3)}$$

Despejando M_{P1} de la ecuación (3-3), tenemos:

$$M_{P1} = M_4 - M_{LE1} - M_{SE1} \quad \text{(Ecuación 3-4)}$$

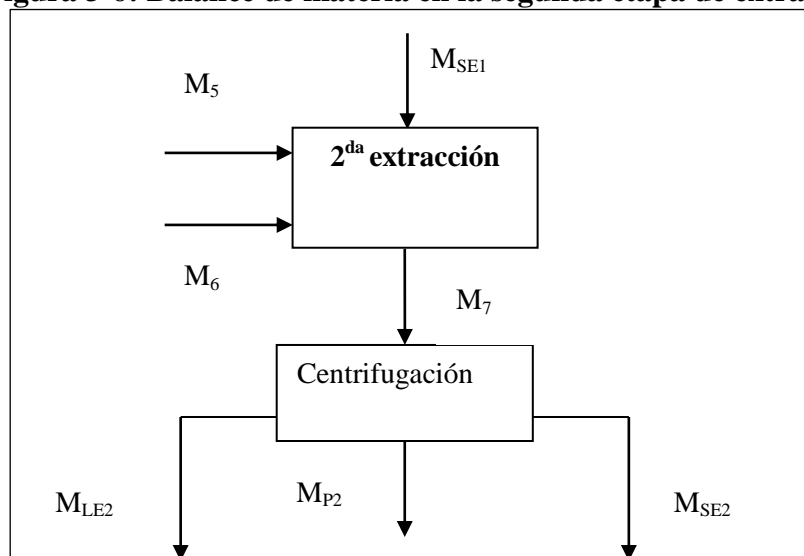
Reemplazando datos en la ecuación (3-4), tenemos:

$$M_{P1} = 219,92 \text{ g} - 149,9 \text{ g} - 69,6 \text{ g} = 0,42 \text{ g de mezcla que se pierden al centrifugar en la (1ª extracción)}.$$

➤ BALANCE DE MATERIA EN LA SEGUNDA ETAPA DE EXTRACCIÓN

La figura 3-6, muestra el balance de materia en la segunda etapa de extracción.

Figura 3-6: Balance de materia en la segunda etapa de extracción



Donde:

M_{SE1} = Masa extracto sólido (1^{ra} extracción) = 69,6g

M_5 = agua que entra = $150\text{ml} * 0.9816\text{g/ml} = 147,24\text{g}$

M_6 = Masa de NaOH 1N = $0,25\text{ml} * \frac{1,001\text{g}}{\text{ml}} = 0,25\text{g}$

M_7 = Mezcla (2^{ra} extracción) = ?

M_{LE2} = Masa extracto líquido (2^{ra} extracción) = 131,95g

M_{SE2} = Masa extracto sólido (2^{ra} extracción) = 84,9g

M_{PE2} = Masa de mezcla que se pierde al centrifugar (2^{ra} extracción) = ?

Balance de materia en la segunda etapa de extracción

$$M_{SE1} + M_5 + M_6 = M_7 \quad (\text{Ecuación 3-5})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-5), tenemos:

$$M_7 = 69,6\text{g} + 147,24\text{g} + 025\text{g} = 217,09\text{g de mezcla en la (2}^{\text{ra}} \text{ extracción)}$$

$$M_7 = M_{LE2} + M_{SE2} + M_{PE2} \quad (\text{Ecuación 3-6})$$

Despejando M_{PE2} de la ecuación (3-6), tenemos:

$$M_{PE2} = M_7 - M_{LE2} - M_{SE2} \quad (\text{Ecuación 3-7})$$

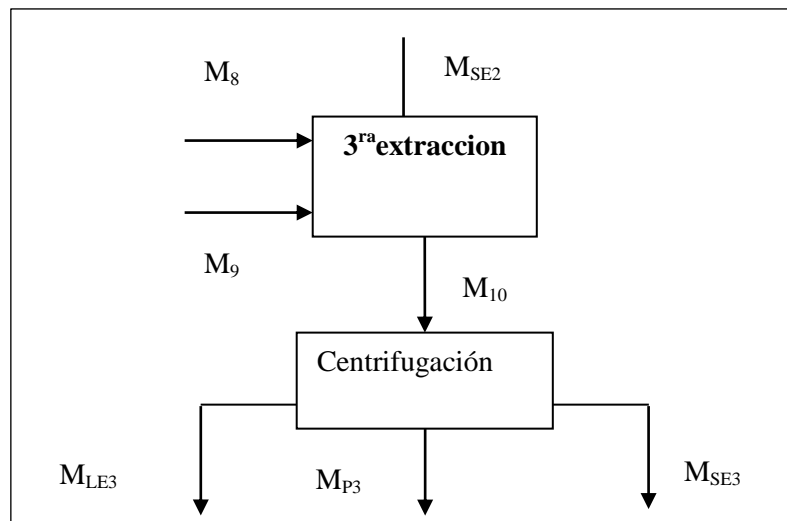
Reemplazando datos en la ecuación (3-7), tenemos:

$M_{P2} = 217,09g - 131,95g - 84,9g = 0,24g$ de mezcla que se pierde al centrifugar (2^{ra} extracción)

➤ **BALANCE DE MATERIA EN LA TERCERA ETAPA DE EXTRACCIÓN**

La figura 3-7, muestra el balance de materia en la tercera etapa de extracción.

Figura 3-7: Balance de materia en la tercera etapa de extracción



Donde:

M_{SE2} = Masa extracto sólido (2^{ra} extracción) = 84,9g

M_8 = agua que entra = $100ml * 0.9816g/ml = 98,16g$

M_9 = Masa de NaOH 1N = $0,3ml * \frac{1,001g}{ml} = 0,30g$

M_{10} = Mezcla (3^{ra} extracción) = ?

M_{LE3} = Masa extracto líquido (3^{ra} extracción) = 94,52g

M_{SE3} = Masa extracto sólido (3^{ra} extracción) que se desecha = 88,68g

M_{P3} = Masa de mezcla que se pierde al centrifugar (3^{ra} extracción) = ?

Balance de materia en la tercera etapa de extracción

$$M_{SE2} + M_8 + M_9 = M_{10}$$

(Ecuación 3-8)

Reemplazando datos en la ecuación (3-8), tenemos:

$M_{10} = 84,9\text{g} + 98,16\text{g} + 0,30\text{g} = 183,36\text{g}$ de mezcla en la (3^{ra} extracción)

$$M_{10} = M_{LE3} + M_{SE3} + M_{P3} \quad (\text{Ecuación 3-9})$$

Despejando M_{P3} de la ecuación (3-9), tenemos:

$$M_{P3} = M_{10} - M_{LE3} - M_{SE3} \quad (\text{Ecuación 3-10})$$

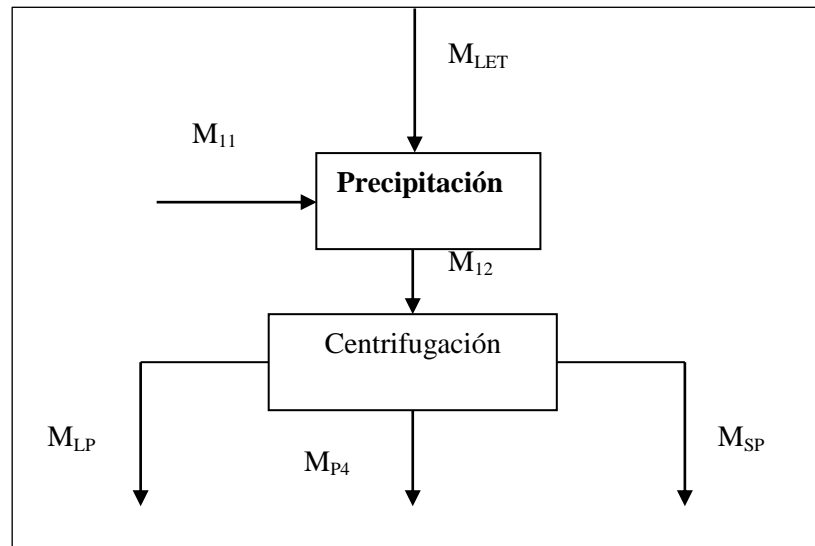
Reemplazando datos en la ecuación (3-10), tenemos:

$M_{P3} = 183,36\text{g} - 94,52\text{g} - 88,68\text{g} = 0,16\text{g}$ de mezcla que se pierde al centrifugar (3^{ra} extracción)

3.5.3.-BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE PRECIPITACIÓN

La figura 3-8, muestra el balance de materia en el proceso de precipitación.

Figura 3-8: Balance de materia en el proceso de precipitación



Donde:

M_{LET} = Masa total de los extractos líquidos de las tres etapas de extracción, para ello se realizó la suma de cada uno de ellos:

$$M_{LET} = M_{LE1} + M_{LE2} + M_{LE3} \quad (\text{Ecuación 3-11})$$

Reemplazando da os en la ecuación (3-11), tenemos:

$M_{LET} = 149,9g + 131,95g + 94,52g = 376,37g$ de extracto líquido que se tiene de las tres etapas de extracción.

$M_{11} = \text{Masa de HCL } 1N = 6,5ml * 0,998g/ml = 6,487g$

$M_{12} = \text{Mezcla de precipitado} = ?$

$M_{LP} = \text{Masa de extracto líquido (acuoso) que se desecha en la precipitación} = 369,0231g$

$M_{SP} = \text{Masa de proteína aislada} = 13,1001g$

$M_{P4} = \text{Masa de mezcla de precipitado que se pierde en la separación sólido-líquido al centrifugar} = ?$

Balance de materia en el proceso de precipitación

$$M_{LET} + M_{11} = M_{12} \quad (\text{Ecuación 3-12})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-12), tenemos:

$$M_{12} = 376,37g + 6,487g = 382,857g \text{ de mezcla de precipitado}$$

$$M_{12} = M_{LP} + M_{P4} + M_{SP} \quad (\text{Ecuación 3-13})$$

Despejando M_{P4} de la ecuación (3-13), tenemos:

$$M_{P4} = M_{12} - M_{LP} - M_{SP} \quad (\text{Ecuación 3-14})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-14), tenemos:

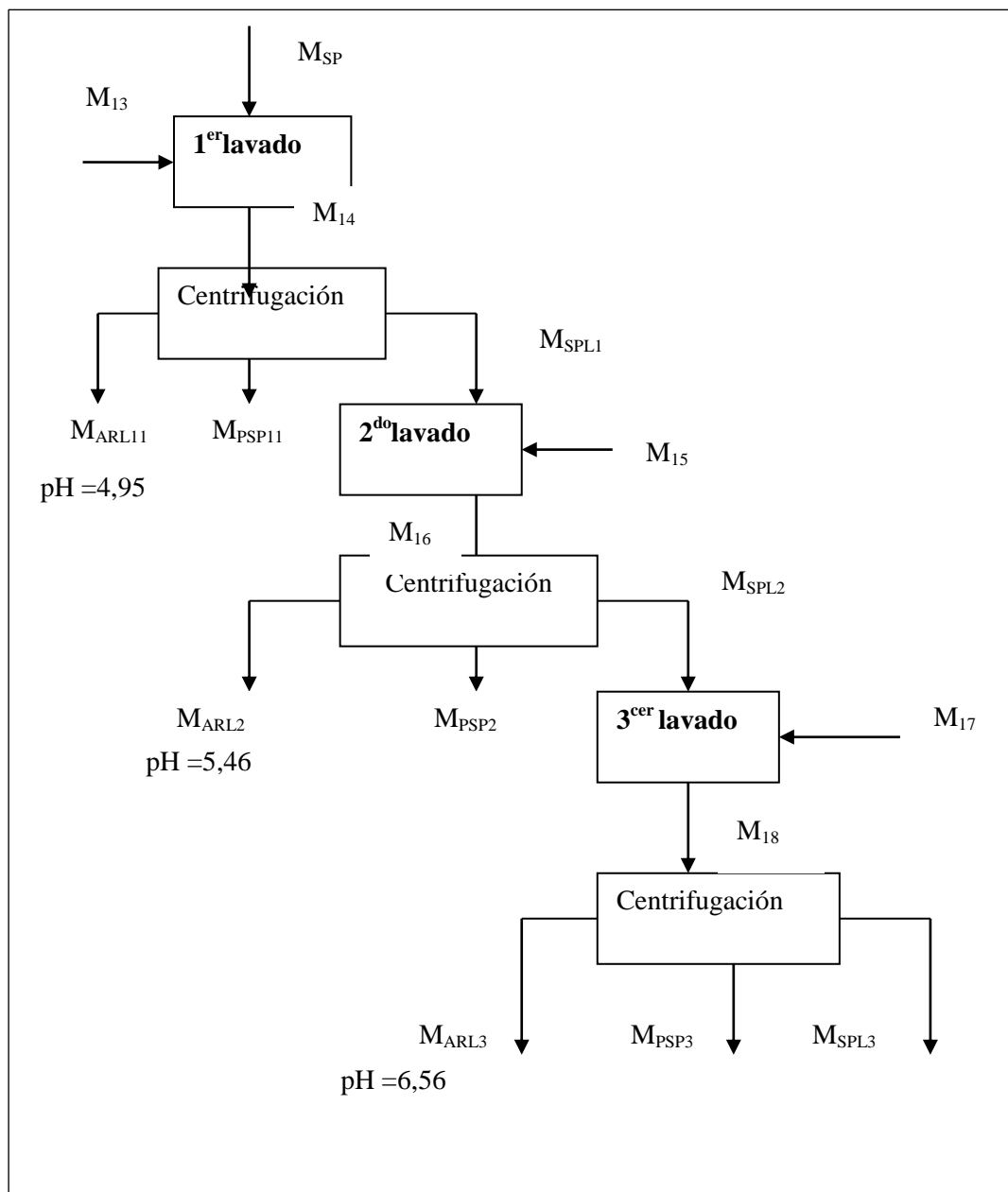
$$M_{P4} = 382,857g - 369,0231g - 13,1001g$$

$M_{P4} = 0,7338g$ de mezcla de precipitado que se pierde en la separación sólido-líquido al centrifugar.

3.5.4.-BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE LAVADO

La figura 3-9, muestra el balance de materia en el proceso de lavado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada.

Figura 3-9: Balance de materia en el proceso de lavado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada



Donde:

M_{SP} = Masa de proteína aislada = 13,1001g

$M_{13} = M_{15} = M_{17}$ = Masa de agua que se utilizó en cada lavado

$M_{13} = M_{15} = M_{17} = 70ml * 0.9816g/ml = 68,712g$

M_{14} = Masa de proteína más agua de lavado = ?

M_{ARL1} = Masa de agua residual en el primer lavado = 68,56g

M_{SPL1} = Masa de proteína aislada en el primer lavado = 12,5979g

M_{PSP1} = Masa de proteína aislada que se pierde en el primer lavado = ?

M_{16} = Masa proteína aislada más agua de lavado = ?

M_{ARL2} = Masa de agua residual en el segundo lavado = 69,06g

M_{SPL2} = Masa de proteína aislada en el segundo lavado = 12,0535g

M_{PSP2} = Masa de proteína aislada que se pierde en el segundo lavado = ?

M_{18} = Masa de proteína más agua de lavado = ?

M_{ARL3} = Masa de agua residual en el tercer lavado = 68,71g

M_{SPL3} = Masa de proteína aislada en el tercer lavado = 11,3303g

M_{PSP3} = Masa de proteína aislada que se pierde en el tercer lavado = ?

M_{SPLT} = Masa total de proteína aislada que se pierde en todo el proceso de lavado = ?

➤ ***Balance de materia en el primer lavado***

$$M_{SP} + M_{13} = M_{14} \quad (\text{Ecuación 3-15})$$

Reemplazando en la ecuación (3-15), datos tenemos:

$$M_{14} = 13,1001g + 68,712g = 81,8121g \text{ de proteína aislada más agua de lavado}$$

$$M_{SP} = M_{SPL1} + M_{PSP1} \quad (\text{Ecuación 3-16})$$

Despejando M_{PSP1} de la ecuación (3-16), tenemos:

$$M_{PSP1} = M_{SP} - M_{SPL1} \quad (\text{Ecuación 3-17})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-17), tenemos:

$$M_{PSP1} = 13,1001g - 12,5979g$$

$M_{PSP1} = 0,5022g$ de proteína aislada que se pierde en el primer lavado

➤ ***Balance de materia en el segundo lavado***

$$M_{SPL1} + M_{15} = M_{16} \quad (\text{Ecuación 3-18})$$

Reemplazando en la ecuación (3-18), datos tenemos:

$$M_{16} = 12,5979g + 68,712g = 81,3099g \text{ de proteína aislada más agua de lavado}$$

$$M_{SPL1} = M_{SPL2} + M_{PSP2} \quad (\text{Ecuación 3-19})$$

Despejando M_{PSP2} de la ecuación (3-19), tenemos:

$$M_{PSP2} = M_{SPL1} - M_{SPL2} \quad (\text{Ecuación 3-20})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-20), tenemos:

$$M_{PSP2} = 12,5979g - 12,0535g$$

$M_{PSP2} = 0,5444g$ de proteína aislada que se pierde en el segundo lavado

➤ ***Balance de materia en el tercer lavado***

$$M_{SPL2} + M_{17} = M_{18} \quad (\text{Ecuación 3-21})$$

Reemplazando en la ecuación (3-21), datos tenemos:

$$M_{18} = 12,0535g + 68,712g = 80,7655g \text{ de proteína aislada más agua de lavado}$$

$$M_{SPL2} = M_{SPL3} + M_{PSP3} \quad (\text{Ecuación 3-22})$$

Despejando M_{PSP3} de la ecuación (3-22), tenemos:

$$M_{PSP3} = M_{SPL2} - M_{SPL3} \quad (\text{Ecuación 3-23})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-23), tenemos:

$$M_{PSP3} = 12,0535g - 11,3303g$$

$M_{PSP3} = 0,7232g$ de proteína aislada que se pierde en el tercer lavado

➤ ***Calculo de la proteína aislada total que se pierde en el proceso de lavado***

$$M_{PSPT} = M_{PSP1} + M_{PSP2} + M_{PSP3} \quad (\text{Ecuación 3-24})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-24), tenemos:

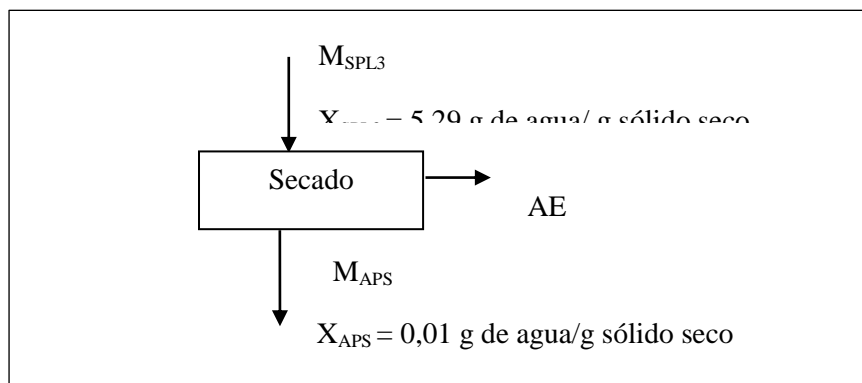
$$M_{PSPT} = 0,5022g + 0,5444g + 0,7232g$$

$M_{PSPT} = 1,7698g$ de proteína aislada total que se pierde durante el proceso de lavado

3.5.5.-BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE SECADO

La figura 3-10, muestra el balance de materia en el proceso de secado del aislado de proteína de harina de soya desengrasada. Para tal efecto, se tomó en cuenta la cantidad de agua evaporada, el contenido de humedad en base seca del aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

Figura 3-10: Balance de materia en el proceso de secado del aislado de proteína de harina de soya desengrasa



Donde:

M_{SPL3} = Masa de proteína aislada lavada = 11,3303g

M_{APS} = Masa de proteína aislada seca = 1,8010g

AE = Cantidad de agua evaporada = ?

Para calcular la cantidad de agua evaporada en el secador, se utilizó la ecuación (3-25), citado por (Valiente, A. 1994).

$$AE = S(W_1 - W_2) \quad \text{(Ecuación 3-25)}$$

Donde:

AE = Cantidad de agua evaporada (g)

W_1 = Contenido de humedad en base seca de aislado de proteína antes del secado
(g agua/g sólido seco)

W_2 = Contenido de humedad en base seca de aislado de proteína después del secado
(g agua/g sólido seco)

Reordenando la ecuación (3-25) en función de contenido de humedad tenemos:

$$AE = m_{ss}(X_{SPL3} - X_{APS}) \quad \text{(Ecuación 3-26)}$$

Donde:

X_{SPL3} = 5,29 g agua/g sólido seco, tomado de la tabla (III-16).

X_{APS} = 0,01 g agua/g sólido seco, tomado de la tabla (III-16).

Por lo tanto:

AE = 1,8010g (5,29 – 0,01) g agua/g sólido seco.

AE = 9,5093 g de agua evaporada en el proceso de secado.

- Cálculo de materia seca y agua asociada al aislado de proteína de harina de soya desengrasada después del proceso de secado de acuerdo al contenido de humedad en base seca del aislado de proteína de harina de soya desengrasada a la salida del

proceso de secado, mediante la ecuación (3-27).

$$M_{\text{APS (seca)}} = M_{\text{APS}} * (1 - X_{\text{APS}})$$

(Ecuación 3-

27)

Reemplazando datos en la ecuación (3-27), tenemos:

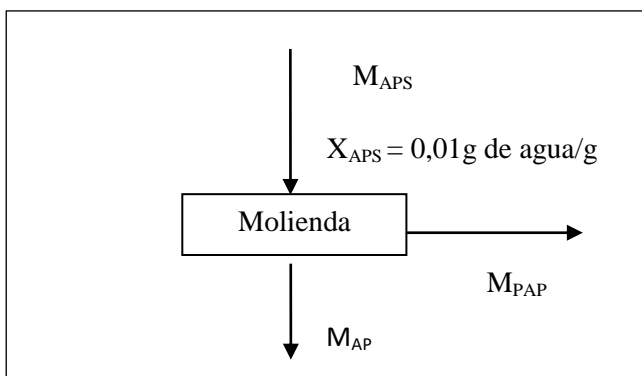
$$M_{\text{APS (seca)}} = 1,8010 * (1 - 0,01) = 1,7829 \text{ g de materia seca}$$

$$\text{Agua asociada} = 1,8010 \text{ g} * 0,01 = 0,0180 \text{ g de agua asociada}$$

3.5.6.-BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE MOLIENDA

La figura 3-11, muestra el balance de materia en el proceso de molienda.

Figura 3-11: Balance de materia en el proceso de molienda



Donde:

$$M_{\text{APS}} = \text{Masa de proteína aislada seca} = 1,8010 \text{ g}$$

$$M_{\text{APM}} = \text{Masa de proteína aislada molida} = 1,5641 \text{ g}$$

$$M_{\text{PAP}} = \text{Pérdida de aislado de proteína aislada en la molienda} = ?$$

Balance de materia en el proceso de molienda

$$M_{\text{APS}} = M_{\text{APM}} + M_{\text{PAP}}$$

(Ecuación 3-28)

Despejando M_{PAP} de la ecuación (3-28), tenemos:

$$M_{\text{PAP}} = M_{\text{APS}} - M_{\text{APM}}$$

(Ecuación 3-29)

Reemplazando datos en la ecuación (3-29), tenemos:

$$M_{\text{PAP}} = 1,8010 \text{ g} - 1,5641 \text{ g}$$

$M_{AE} = 0,2369\text{g}$ de aislado de proteína aislada que se pierde en la molienda

3.6.-BALANCE DE ENERGÍA EN LA CENTRIFUGACIÓN Y EN EL PROCESO DE SECADO

Tanto en el proceso de centrifugación y secado se calculó la cantidad de energía eléctrica consumida por la centrífuga y la estufa eléctrica de convección mecánica que no tiene flujo de aire.

La tabla III-15, muestra la potencia y tiempo que se utilizaron tanto en la centrifuga como la estufa eléctrica en el proceso de obtención del aislado de proteína de harina de soya desengrasada, y mediante cálculo se encontró la energía eléctrica consumida por la centrifuga y la estufa de convección mecánica que no tiene flujo de aire.

Tabla III-15: Potencia y tiempo de trabajo de la centrifuga y estufa en el proceso de obtención del aislado de proteína de harina de soya desengrasada

Operación	Potencia (kw)	Tiempo (h)	Energía (kwh)
Centrifugación	0,38	2,333	0,887
Secado	0,265	14	3,71

Fuente: Elaboración propia.

➤ Cálculo de energía eléctrica consumida en la centrifugación

Las condiciones de centrifugación son:

$$\text{Potencia (P)} = 380\text{w} \left(\frac{1\text{kw}}{1000\text{w}} \right) = 0,38\text{kw}$$

$$\text{Tiempo (t)} = 140\text{min} \left(\frac{1\text{h}}{60\text{min}} \right) = 2,333\text{h}$$

Para calcular la energía eléctrica consumida por la centrifuga en la centrifugación, se utilizó la ecuación matemática (3-30), citada por (Coakley, T. 2010).

$$P = \frac{E}{t} \quad \text{(Ecuación 3-30)}$$

Donde:

P = Potencia eléctrica (kw)

E = Energía consumida en una unidad de tiempo (kwh)

$t =$ Tiempo (h)

Despejando E de la ecuación (3-30), tenemos:

$$E = P \cdot t \quad (\text{Ecuación 3-31})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-31), tenemos:

$E = 0,38\text{kw} \cdot 2,333\text{h} = 0,887\text{kwh}$ de energía eléctrica que se consumió la centrifuga en el proceso de centrifugación en la obtención del aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

➤ **Cálculo de energía eléctrica consumida en el proceso de secado**

Las condiciones de secado son:

Tiempo (t) = 14h

Temperatura de secado (T) = 32,5°C

$$\text{Potencia de la estufa eléctrica (P}_o\text{)} = 265\text{w} \left(\frac{1\text{kw}}{1000\text{w}} \right) = 0,265\text{kw}$$

Para calcular la energía eléctrica consumida por la estufa en el proceso de secado, se utilizó la expresión matemática (3-32), citada por (Coakley, T. 2010).

$$P = \frac{E}{t} \quad (\text{Ecuación 3-32})$$

Donde:

P = Potencia eléctrica (kw)

E = Energía consumida en una unidad de tiempo (kwh)

t = Tiempo (h)

Despejando E de la ecuación (3-32), tenemos:

$$E = P \cdot t \quad (\text{Ecuación 3-33})$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-33), tenemos:

Energía = $0,265\text{kw} \cdot 14\text{h} = 3,71\text{kwh}$ de energía que consumió la estufa en el proceso de secado en la obtención del aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

3.7.- DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE SECADO

Para determinar el tiempo de secado de la proteína aislada de harina de soya desengrasada, se procedió a realizar una curva de secado con datos obtenidos experimentalmente, para ello se pesó una determinada cantidad de muestra, colocando a esta en cajas Petri previamente taradas, llevando a la estufa a una temperatura de 32,5°C; con tiempos de intervalos de cada

hora se procedió a pesar la muestra colocándola en el desecador, durante 15 minutos para que se establezca hasta alcanzar peso constante, este procedimiento se repitió hasta que las variaciones entre dos pesadas sucesivas sean casi idénticas.

El control de variación del contenido de humedad se realizó en base seca, para determinar el contenido de humedad, se utilizó la ecuación (3-34), citada por (Martínez y Lira, 2010).

$$X = \frac{m_i - m_{SS}}{m_{SS}} \quad (\text{Ecuación 3-34})$$

Dónde: X = Contenido de humedad en base seca (kg agua/kg sólido seco)

m_i = Masa inicial de muestra de proteína aislada (kg)

m_{SS} = Masa de sólido seco de proteína aislada (kg)

La curva del proceso de secado, se realizó en base a la muestra que salió mayor aceptada M₂ (pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5), por los jueces en la evaluación sensorial del aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

En la tabla III-16, se muestran los datos de la variación en peso y contenido de humedad en base seca a temperatura constante de 32,5°C.

Tabla III-16: Variación de peso y contenido de humedad en base seca a temperatura constante de 32,5°C

Tiempo (h)	Muestra (g)	Muestra (kg)	X (kg de agua/kg sólido seco)
0	11,3303	0,01133	5,2946
1	9,8910	0,00989	4,4950
2	8,3990	0,00840	3,6661
3	7,3580	0,00736	3,0878
4	6,4080	0,00641	2,5600
5	5,5170	0,00552	2,0650

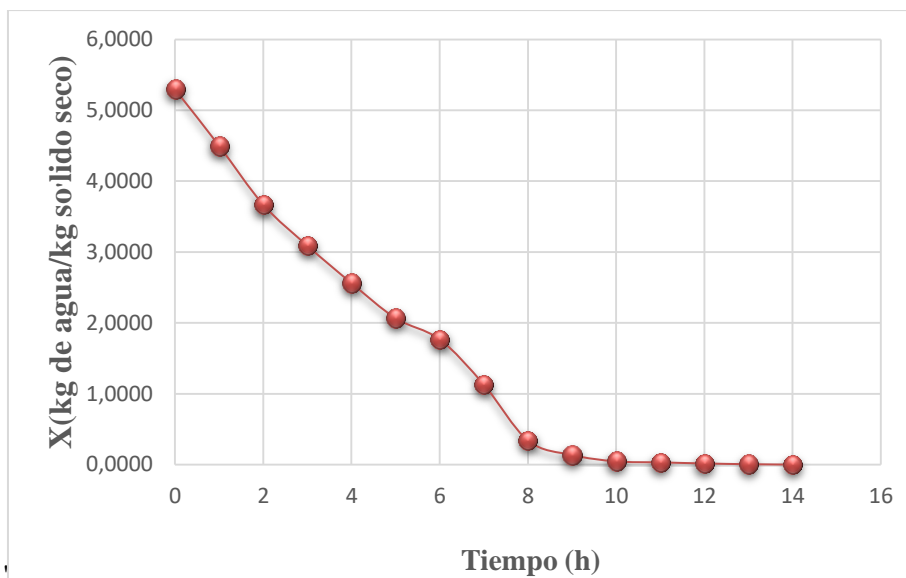
6	4,9790	0,00498	1,7661
7	3,8310	0,00383	1,1283
8	2,4120	0,00241	0,3400
9	2,0440	0,00204	0,1356
10	1,8830	0,00188	0,0461
11	1,8570	0,00186	0,0317
12	1,8300	0,00183	0,0167
13	1,8110	0,00181	0,0061
14	1,8010	0,00180	0,0006

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3-12, se muestra la curva de secado (contenido de humedad en base seca en función del tiempo), de la proteína aislada de harina de soya desengrasada, realizado en Excel versión 2013.

Figura 3-12

Curva de secado de proteína aislada de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3-12, se observa la variación del contenido de humedad en base seca de la muestra de aislado de proteína de harina de soya desengrasada a temperatura constante de 32,5°C.

3.8.- DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE SECADO

Se define la velocidad de secado como la pérdida de humedad del sólido húmedo en una unidad de tiempo, y más exactamente por el coeficiente diferencial $(-dx/dt)$ operando en condiciones constantes de secado expresada mediante la ecuación (3-35), citado por (O'con, J. y Tojo, G. 1963).

$$W = \frac{SS}{A} \left(-\frac{dX}{dt} \right) \quad (\text{Ecuación 3-35})$$

Donde:

SS = Peso de sólido seco, (kg)

A = Área de la superficie expuesta, (m²)

W = Velocidad de secado, (kg/m²*h)

X = Humedad en base seca

Para la determinación del área de la superficie expuesta (caja Petri), se utilizó la siguiente expresión (3-36), citado por (O'con, J. y Tojo, G. 1963).

$$A = \pi * r^2 \quad (\text{Ecuación 3-36})$$

Donde:

$$\Pi = 3,14$$

$$r = \text{radio de la caja Petri} = D \text{ caja Petri} / 2 = 0,5\text{cm} = 0,05\text{m}$$

Reemplazando datos en la ecuación (3-36), tenemos:

$$A = 3,14*(0,05\text{m})^2 = 0,00785\text{m}^2 \text{ de caja Petri que fue expuesta en el proceso de secado.}$$

Método de tres puntos:

Para determinar la velocidad de secado en base a los datos de humedad versus tiempo obtenidos en las experiencias de laboratorio, se utilizó el método de los tres puntos, el mismo que sirve para encontrar la pendiente en cada uno de los puntos observados, por lo que se trabajó con la ecuación (3-37), ecuación (3-38) y ecuación (3-39).

$$ya = \frac{-3y_0 + 4y_1 - y_2}{2h} \quad (\text{Ecuación 3-37})$$

$$yb = \frac{-y_0 + y_2}{2h} \quad (\text{Ecuación 3-38})$$

$$yc = \frac{y_0 - 4y_1 + 3y_2}{2h} \quad (\text{Ecuación 3-39})$$

Donde:

h = Intervalo de tiempo = 1h

y₀, y₁, y₂ = datos tomados de la tabla (III-16)

Con los datos de la tabla (III-16), se reemplazan en las ecuaciones, (3-37), (3-38) y (3-39), para hallar los cálculos de la cinética de secado con el método de los tres puntos, con estos con un intervalo de tiempo de 1 hora.

Los demás cálculos que se realizaron para obtener la cinética de secado se encuentran en el Anexo F.

Luego de encontrar $(-dx/dt)$, con el método de los tres puntos como se muestra en el anexo F, estos datos se los reemplaza en la ecuación (3-35) con la que se obtiene la velocidad de secado (W), que se observa en la tabla (III-17) extraída de la tabla F-1 (Anexo F).

Tabla III-17: Datos de velocidad de secado de aislado de proteína de harina de soya desengrasada

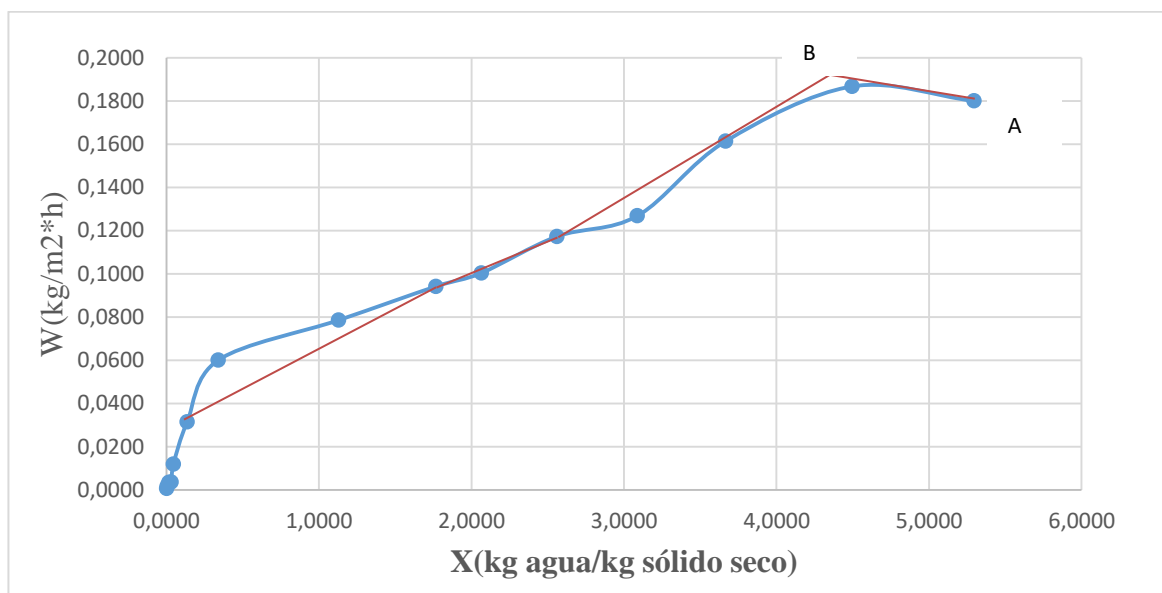
Tiempo (h)	Peso (g)	Peso (kg)	X (kg agua/kg sólido seco)	(-dx/dt)	W(kg/m ² *h)
0	11,3303	0,01133	5,2946	0,7850	0,1800
1	9,8910	0,00989	4,4950	0,8143	0,1867
2	8,3990	0,00840	3,6661	0,7036	0,1613
3	7,3580	0,00736	3,0878	0,5531	0,1268
4	6,4080	0,00641	2,5600	0,5114	0,1173
5	5,5170	0,00552	2,0650	0,4378	0,1004
6	4,9790	0,00498	1,7661	0,4106	0,0941
7	3,8310	0,00383	1,1283	0,3425	0,0785
8	2,4120	0,00241	0,3400	0,2619	0,0601
9	2,0440	0,00204	0,1356	0,1369	0,0314
10	1,8830	0,00188	0,0461	0,0519	0,0119
11	1,8570	0,00186	0,0317	0,0160	0,0037
12	1,8300	0,00183	0,0167	0,0153	0,0035
13	1,8110	0,00181	0,0061	0,0082	0,0019
14	1,8010	0,00180	0,0006	0,0031	0,0007

Fuente: Elaboración propia.

La figura 3-13, muestra la curva de velocidad de secado para obtener aislado de proteína de harina de soya desengrasada en función del contenido de humedad de datos obtenidos de la tabla (III-17), realizado en Excel versión 2013.

Figura 3-13
Cinética en el proceso de secado para obtener aislado de proteína de harina de soya

desengrasada



FUENTE: Elaboración propia.

En la figura 3-5, se muestra el comportamiento de la velocidad de secado que se tiene en función del contenido de humedad en base seca, al principio la velocidad de secado aumenta entre el punto uno y dos de esta etapa porque la proteína aislada fue separada por centrifugación a 4°C temperatura inferior de la que se tendrá al final del proceso de secado, por lo cual entre el punto (A-B) la velocidad de evaporación va en aumento.

En los tramos (B-C) la velocidad de secado decrece por debajo de un nivel denominado humedad crítica, hasta que el contenido de humedad de las muestras alcance el valor de equilibrio.

3.9.- INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS SOBRE EL RENDIMIENTO

A continuación se muestra la influencia de los parámetros (pH de extracción y pH de

precipitación), sobre el rendimiento en el proceso de extracción del aislado de proteína de harina de soya desengrasada.

3.9.1.- pH DE EXTRACCIÓN Y pH DE PRECIPITACIÓN

La tabla III-18, transferida de la tabla C-1 (Anexo C), muestra los resultados experimentales obtenidos en el proceso de extracción del aislado de proteína a partir de 20 g de harina de soya desengrasada, donde se observa la influencia de los parámetros. pH de extracción y pH de precipitación sobre el rendimiento del aislado de proteína.

Tabla III-18

Datos experimentales del proceso de extracción del aislado de proteína de harina de soya desengrasada

N° DE ENSAYOS	FACTORES		RESPUESTA I		RESPUESTA II	
	pH extracción	pH precipitación	Aislado (g)	Aislado (%)	Aislado (g)	Aislado (%)
1	8,0	3,0	1,448	7,240	1,513	7,565
2	8,0	4,5	1,053	5,265	1,083	5,415
3	8,0	5,0	0,636	3,180	0,612	3,060
4	9,2	3,0	1,580	7,900	1,491	7,455
5	9,2	4,5	1,310	6,550	1,021	5,105
6	9,2	5,0	0,947	4,735	1,001	5,005
7	11,0	3,0	3,044	15,220	3,051	15,255
8	11,0	4,5	2,700	13,500	2,741	13,705
9	11,0	5,0	2,466	12,330	2,331	11,655

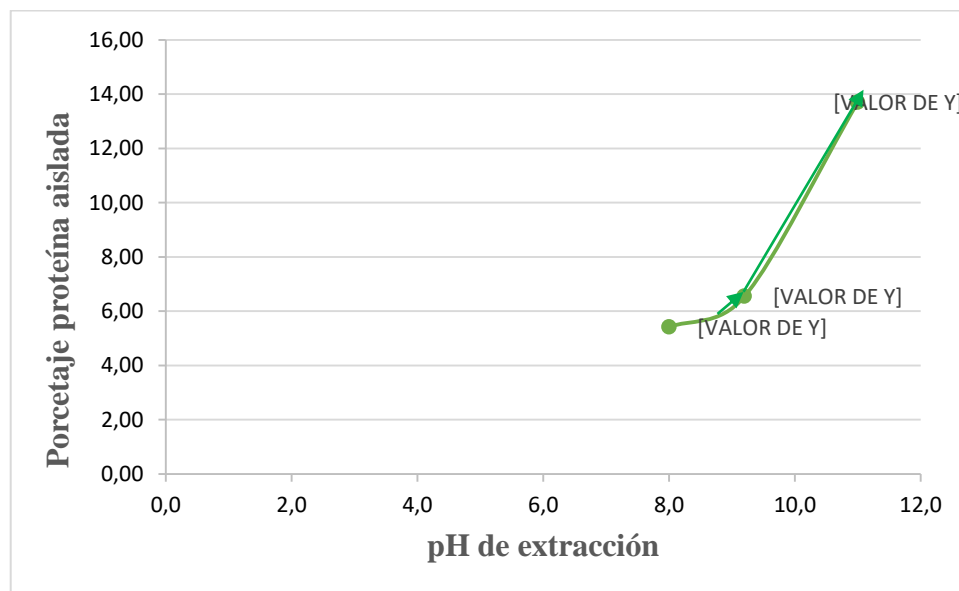
Fuente: Elaboración propia.

En la tabla III-18, se detalla claramente que a mayor pH de extracción y precipitación se obtiene mayor rendimiento que es del (15,255%), de aislado de proteína de harina de soya desengrasada, en pH 11,0 de extracción y pH 3,0 de precipitación.

En la figura 3-14, se puede observar el efecto que causa el pH de extracción sobre el rendimiento de aislado de proteína. Se presentan características diferentes según el pH de extracción empleado.

Figura 3-14

Efecto del pH de extracción sobre rendimiento del aislado de proteína de harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

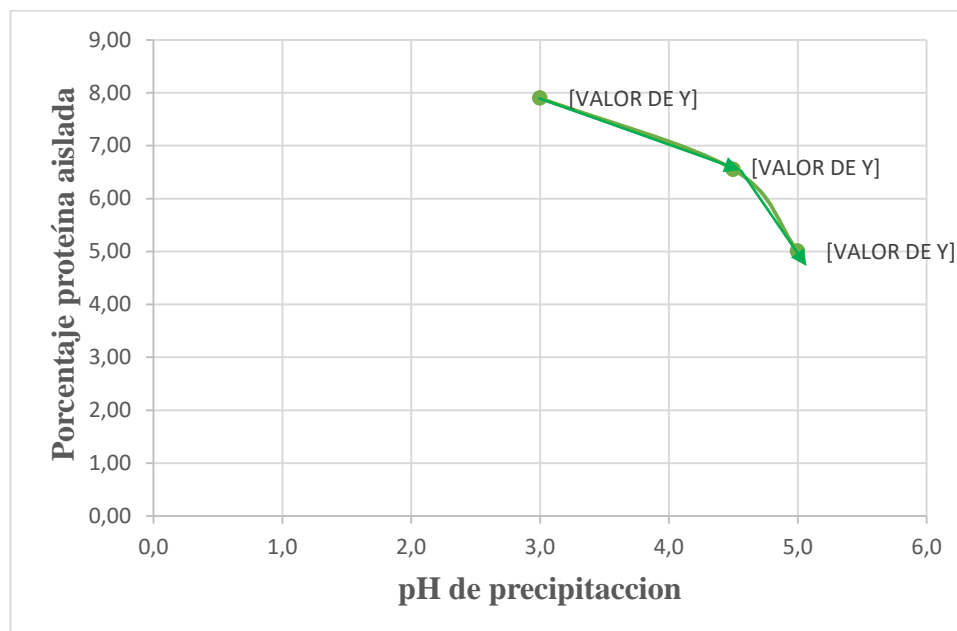
Destacando que el rendimiento se incrementa a medida que aumenta el pH de extracción, obteniéndose mayor porcentaje de aislado de proteína con el pH 11,0 de extracción frente al pH 9,2 de extracción y pH 8,0 de extracción. Considerándose que se empleó el mismo pH de precipitación (4,5) y la misma cantidad de materia prima a extraer, sin embargo el porcentaje extraído en pH 11,0 de extracción es superior al extraído en pH 9,2 de extracción y en pH 8,0 de extracción. Esto se debe que a tratamientos alcalinos altos ($\text{pH} > 9,2$) afectan negativamente a los aminoácidos azufrados y a otros esenciales tales como lisina generando lisino-alanina; además de causar desnaturalización e hidrólisis de las proteínas, incremento de la reacción de maillard con el oscurecimiento de las proteínas; e incremento de la extracción de componentes no proteicos los cuales coprecipitan con las proteínas, bajando así la calidad del aislado proteico.

En la figura 3-15, se puede observar el efecto que causa el pH de precipitación sobre el rendimiento del aislado de proteína en base a los datos de la tabla III-18.

Figura 3-15

Efecto del pH de precipitación sobre rendimiento del aislado de proteína de

harina de soya desengrasada



Fuente: Elaboración propia.

Considerándose que se empleó el mismo pH de extracción (9,2) y la misma cantidad de materia prima a extraer. El pH de precipitación también influye en la cantidad de aislado de proteína obtenido. Ya que a medida que este aumenta la cantidad de aislado de proteína es máximo por precipitación a pH 3,0. En comparación a pH 4,5 de precipitación y pH 5,0 de precipitación. Sin embargo la variación del pH de precipitación influye sobre la apariencia física de la proteína aislada. Aun pH por debajo de 4,0 la apariencia física de la proteína cambia considerablemente precipitando en forma de agregados o grumos.

3.10.- CONDICIONES DE OPERACIÓN RECOMENDADAS PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE AISLADO DE PROTEÍNA DE HARINA DE SOYA

DESENGRASADA

De los datos experimentales de la tabla III-18, se construyó las figuras 3-14 y 3-15, donde se observa que a pH 11,0 de extracción y pH 3,0 de precipitación se obtiene mejor rendimiento del aislado de proteína de harina de soya desengrasada, si se analiza el rendimiento en la figura 3-14, entre pH 8,0 y 9,0 de extracción el porcentaje de aislado de proteína su incremento es mínimo y finalmente entre pH 9,2 y 11,0 de extracción se incrementa notoriamente el porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada. En la figura 3-15, se analiza el rendimiento de aislado de proteína en base al pH de precipitación entre 5,0 y 4,5 el porcentaje de aislado de proteína su incremento es mínimo y entre 4,5 y 3,0 su incremento es máximo. De tal forma para poder escoger con cuál de los tres niveles de pH de extracción y pH de precipitación se trabajara, se debe tomar en cuenta la influencia del pH de extracción (pH>9,2), afecta a los aminoácidos esenciales y que además causa desnaturalización de las proteínas, oscurecimiento de las proteínas e incremento de la extracción de componentes no proteicos bajando la calidad del aislado proteico. La influencia del pH de precipitación es notoria ya que se logra un rendimiento máximo a pH 3,0 de precipitación pero sin embargo a un pH por debajo de 4,0 la apariencia física de la proteína cambia considerablemente precipitando en forma de grumos o agregados como ya se mencionó anteriormente. Por lo que se escoge como condición optima un pH de extracción de 8,0 y un pH de precipitación de 4,5.

4.1.-CONCLUSIONES

Referente a los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación se pueden formular las siguientes conclusiones:

- ❖ En base a los análisis fisicoquímico de la harina de soya desengrasada, son proteína total 40,25%; materia grasa 1,64%; fibra 5,26%; cenizas 7,44%; húmeda 6,6% y carbohidratos 38,56mg/kg.
- ❖ En relación a la extracción del aislado de proteína de harina de soya desengrasada, resulta más adecuado trabajar con pH de extracción entre (8,0-9,2) de pH aunque no se obtiene gran cantidad de producto, porque dentro de estos límites no se desnaturaliza la proteína y no se extrae componentes no proteicos lo cual baja la calidad del producto. Y un pH de precipitación que permita precipitar la proteína sin afectar las propiedades físicas de la proteína (apariencia, color, etc.).
- ❖ Realizada la evaluación sensorial de las muestras de aislado de proteína de harina de soya desengrasada para determinar el pH de extracción y pH de precipitación dieron como resultado como la muestra de mejor preferencia en cuanto a color, olor y sabor la muestra M2 con pH de extracción 8,0 y pH de precipitación 4,5. Asimismo realizado la prueba estadística de Duncan se estableció que las muestras (tratamientos) son significativos para un $p < 0,05$.
- ❖ Realizado el análisis del diseño experimental 3^2 , se estableció que el pH de extracción es altamente significativo en comparación con el pH de precipitación que es significativo para $p < 0,05$. Es decir que el pH de extracción tiene más influencia que el pH de precipitación sobre el porcentaje de aislado de proteína de harina de soya desengrasada extraída en forma experimental, es decir en el proceso de extracción de obtención de aislado proteína de harina de soya desengrasada.
- ❖ Los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico del aislado de proteína de harina de soya desengrasada, son proteína total 64,45 %; materia grasa 8,70 %; fibra 4,90%; cenizas 2,94% y hidratos de carbono 12,54%. El aislado de proteína de harina de soya desengrasada posee una menor proporción en proteína comparando con la extracción de aislado de proteína a nivel industrial, debido a que la materia prima presento un bajo

índice de proteína.

- ❖ Los resultados obtenidos del análisis microbiológico del producto final, presenta $<10^{(*)}$ Ufc/g de coliformes totales; $<10^{(*)}$ Ufc/g de coliformes termoresistentes y $5,0 \times 10^3$ Ufc/g de mohos y levaduras.

4.2.- RECOMENDACIONES

- ❖ Alas autoridades del sector de industrialización de soya
Evaluar, los resultados obtenidos tanto técnica como económicamente, para estudiar la posibilidad de realizar un mejor aprovechamiento de la harina de soya. Para producir subproductos que sean apreciados por sus cualidades y precios, como lo es el aislado de proteína obtenido a partir de la harina de soya desengrasada que por el momento son utilizados solamente para la alimentación del ganado desperdiciando una gran cantidad de nutrientes.
- ❖ A futuras investigaciones
 - Se sugiere realizar un estudio a mayor escala del proceso de extracción, el cual permita evaluar parámetros como la relación sólido/líquido, temperatura y tiempo de extracción, etc. por qué de esta manera se trabaja en la industria.
 - También se recomienda introducir dentro de futuras investigaciones la relación solvente recuperado/solvente nuevo. Para un adecuado aprovechamiento del solvente y disminuir los costos de operación.
 - Buscar nuevas aplicaciones de la harina residual que queda del proceso de extracción, ya que los residuos contienen aun un apreciable porcentaje de proteína y nutrientes.