

**Determinación de las condiciones de temperatura y tiempo más favorables para lograr la inactivación de los inhibidores de tripsina en el frijol soya a través del proceso de cocción.**

**FÉLIX ORLANDO CABALLERO SANABRIA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS TECNOLOGIA E INGENIERIA  
ECBTI  
BUCARAMANGA  
2019**

**Determinación de las condiciones de temperatura y tiempo más favorables para lograr la inactivación de los inhibidores de tripsina en el frijol soya a través del proceso de cocción.**

**FÉLIX ORLANDO CABALLERO SANABRIA**

***Trabajo de grado para optar al título de***  
**Especialista en procesos de alimentos y biomateriales**

**Asesor**

**M.Sc. Vicente Ortiz**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS TECNOLOGIA E INGENIERIA  
ECBTI  
BUCARAMANGA  
2 019**

Nota de aceptación

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del Jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del jurado

Bucaramanga 25 de octubre de 2019

# Contenido

	Pág.
<b>LISTADO DE ANEXOS</b> .....	8
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	12
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	14
<b>3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS</b> .....	14
<b>4. MARCO CONCEPTUAL Y TEORICO</b> .....	15
<b>4.1 GENERALIDADES DEL FRIJOL SOYA</b> .....	15
4.1.1 Cultivo de soya en Colombia .....	15
4.1.2. Productos derivados de la soya.....	16
<b>4.2 CARACTERIZACION DEL FRIJOL SOYA</b> .....	17
4.2.1 Características físicas.....	17
4.2.2 Características químicas.....	18
4.2.3. Solubilidad de la proteína en KOH 0,2% .....	19
<b>4.3 Tripsina y factores anti nutricionales del frijol soya.</b> .....	20
4.3.1 Factores anti nutricionales .....	21
4.3.2 Inhibidor de tripsina .....	22
4.3.2.1 Efectos de los inhibidores de tripsina en dietas para animales. ....	24
<b>4.4 TRATAMIENTOS TERMICOS DEL FRIJOL SOYA</b> .....	25
4.4.1 Proceso de cocción del frijol soya .....	25
<b>5. METODOLOGIA</b> .....	27
<b>5.1 INSPECCION DE PARAMETROS DE PROCESO Y MATERIA PRIMA UTILIZADA.</b> .....	27
5.1.1 Identificar los parámetros actuales de proceso.....	27
5.1.2 Caracterización de la materia prima.....	27
5.1.2.1 Análisis físicos.....	28
5.1.2.2 Análisis de humedad.....	28
5.1.2.3 Análisis de grasa.....	28
5.1.2.4 Análisis de cenizas.....	28
5.1.2.5 Análisis de proteína. ....	29
5.1.2.6 Análisis de proteína soluble en KOH 0,2%.....	29

5.1.2.7 Análisis de Inhibidor de tripsina.....	29
5.2 Evaluación del tratamiento térmico del frijol soya .....	30
5.2.1 Diseño experimental.....	30
5.2.2 Análisis de datos .....	31
5.3 Análisis de laboratorio. ....	32
5.3.1 Recolección de las muestras de producto terminado .....	32
5.3.2 Análisis preliminares del producto cocido.....	32
5.3.3 Preparación de las muestras para análisis de química húmeda.....	32
5.3.4 Análisis por química húmeda. ....	33
5.4 Estudiar la correlación entre proteína soluble en KOH e inhibidor de tripsina.....	33
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	34
6.1 Identificación del proceso.....	34
6.2. Parámetros operativos de planta.....	34
6.2.1 Resumen de parámetros operativos actuales de la planta de cocción .....	35
6.3 CARACTERIZACION DE LA MATERIA PRIMA .....	35
6.3.1 análisis físicos .....	36
6.3.2. Análisis químicos.....	37
6.4. Análisis de inhibidor de tripsina. ....	38
6.5. Desarrollo del diseño experimental.....	38
6.5.1. Análisis de varianza.....	39
6.5.2. Modelo matemático y coeficiente de determinación .....	45
6.6. Análisis de Tukey .....	47
6.7. Estudio de correlación entre el inhibidor de tripsina y la proteína soluble en KOH....	48
6.7.1 Regresión simple .....	49
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES .....	53
Bibliografía.....	54

## LISTADO DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1:</b> Principales productos de soya .....	16
<b>Tabla 2:</b> Composición bromatológica del frijol soya cocido .....	18
<b>Tabla 3:</b> Perfil de ácidos grasos del aceite de soya .....	19
<b>Tabla 4:</b> Factores anti nutricionales presentes en la soya. ....	21
<b>Tabla 5:</b> Isoflavonoides del frijol soya.....	23
<b>Tabla 6:</b> Diseño experimental factorial.....	31
<b>Tabla 7:</b> Corridas experimentales. ....	31
<b>Tabla 8:</b> Resumen de los parámetros actuales de proceso.....	35
<b>Tabla 9:</b> Resultados estadísticos del grano de frijol soya crudo .....	36
<b>Tabla 10:</b> Resultados Bromatológicos para el frijol soya crudo. ....	37
<b>Tabla 11:</b> Resultados de inhibidor de tripsina para un frijol crudo. ....	38
<b>Tabla 12:</b> Resultados de inhibidores de tripsina en UIT/mg en los diferentes tratamientos evaluados. ....	39
<b>Tabla 13:</b> Efectos estimados para la variable de respuesta Inhibidor de tripsina .....	40
<b>Tabla 14:</b> Análisis de Varianza para Inhibidor de tripsina – Proceso de cocción del frijol soya...41	
<b>Tabla 15:</b> Comparación entre el inhibidor de tripsina experimental y el calculado .....	46
<b>Tabla 16:</b> Coeficiente de determinación.....	46
<b>Tabla 17:</b> Resultados análisis de tukey.....	47
<b>Tabla 18:</b> Análisis de diferencias entre grupos .....	47
<b>Tabla 19:</b> Relación entre inhibidor de tripsina, proteína soluble en KOH y lisina reactiva.....48	
<b>Tabla 20:</b> Comparativo entre inhibidor de tripsina y proteína soluble en KOH 0,2% .....	49
<b>Tabla 21:</b> Coeficientes del modelo lineal .....	49
<b>Tabla 22:</b> Coeficiente de determinación del modelo lineal.....	50

## LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Vista del frijol soya y sus partes. a). vista lateral; b) vista de un frijol abierto donde se observan los dos cotiledones; c) Vista frontal. ....	18
<b>Figura 2:</b> Estructura química del inhibidor de tripsina .....	22
<b>Figura 3:</b> Imagen de dos cocedores de frijol soya. ....	26
<b>Figura 4:</b> Esquema general de una planta cocedora de frijol, .....	26
<b>Figura 7:</b> Sistema de extracción de grasa .....	29
<b>Figura 8:</b> Ejecución del análisis de inhibidor de tripsina .....	30
<b>Figura 5:</b> Diagrama de flujo de los factores que intervienen en el proceso y la variable de respuesta. ....	30
<b>Figura 6:</b> Comportamiento de las variables físicas del grano. Grano verde, Grano con hongos e impurezas. ....	36
<b>Figura 9:</b> diagrama de Pareto de la significancia de los factores. ....	42
<b>Figura 10:</b> Efectos de los factores estudiados.....	44
<b>Figura 11:</b> Grafico de superficie de los factores de estudio y la variable de respuesta .....	44
<b>Figura 12:</b> Grafico de contornos de la temperatura y el tiempo y el inhibidor de tripsina .....	45
<b>Figura 13:</b> Grafico del modelo ajustado.....	50

## LISTADO DE ANEXOS

Pág.

<b>ANEXO A:</b> Tabla de análisis físicos de la materia prima recibida para el proceso de cocción....	58
<b>ANEXO B:</b> Tabla de análisis de los diferentes modelos probados para determinar el mejor coeficiente de determinación .....	59



## **RESUMEN.**

**TITULO:** Determinación de las condiciones de temperatura y tiempo más favorables para lograr la inactivación de los inhibidores de tripsina en el frijol soya a través del proceso de cocción.

**AUTORES:** FÉLIX ORLANDO CABALLERO SANABRIA<sup>1</sup>

**PALABRAS CLAVES:** Frijol soya cocido, Tripsina, Inhibidor de tripsina, proteína soluble.

**CONTENIDO:** El frijol soya es una planta de la familia de las leguminosas utilizado en gran porcentaje en la alimentación de animales, sin embargo la cantidad de agentes anti nutricionales presentes, en especial el inhibidor de tripsina hacen necesario el tratamiento térmico de esta materia prima, para reducir o eliminar estos factores no deseados y poder ser incluido en las dietas de alimento concentrado.

El objetivo de este proyecto fue investigar las condiciones de proceso más favorables que permitieran una disminución de los inhibidores de tripsina. Para ello se evaluó la temperatura y el tiempo de cocción y la respuesta del inhibidor de tripsina.

Se evaluaron las temperaturas de 55 y 85°C y los tiempos entre 1240 y 1300 de acuerdo a un diseño experimental de 2<sup>2</sup>. De igual manera se estudió la posible correlación que pudiese presentarse entre el inhibidor de tripsina y el % de proteína soluble en KOH como variable de control de calidad del proceso térmico.

---

<sup>1</sup> Escuela de ciencias, tecnología e ingeniería.

## ABSTRACT

**TITLE:** Determination of the most favorable temperature and time conditions to achieve the inactivation of trypsin inhibitors in full fat soybean through the cooking process.

**AUTHOR:** FÉLIX ORLANDO CABALLERO SANABRIA<sup>2</sup>

**KEYWORDS:** Cooking full fat soybean, Trypsin, trypsin inhibitor, soluble protein.

**CONTENT:** Soybean is a plant of the legume family used in large percentage for animal feed, however, the anti-nutritional agents such as the trypsin inhibitor, make heat treatment of raw product necessary to reduce or eliminate these unwanted factors in order to include it in animal food.

The objective of this project was to investigate the most favorable process conditions that would allow a decrease in trypsin inhibitors. Therefore, temperature, cooking time, and response of the trypsin inhibitor were evaluated.

The temperatures of 55 and 85 ° C and times between 1240 and 1300 seconds were evaluated according to an experimental design of 2<sup>2</sup>. Likewise, the possible correlation that could occur between the trypsin inhibitor and the % of Protein soluble in KOH was studied as a quality control variable of the thermal process.

---

<sup>2</sup> Escuela de ciencias, tecnología e ingeniería.

## INTRODUCCIÓN

La tripsina es una enzima perteneciente a la familia de las proteasas y tiene como función realizar la hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas. Esta enzima juega un papel importante en el organismo ya que al realizar la hidrólisis de las proteínas facilita la absorción en el organismo contribuyendo al desarrollo y al crecimiento de las células.

Existen en la naturaleza otras moléculas o proteínas que se encargan de regular la actividad de la tripsina, estas son denominadas inhibidores de tripsina, los cuales se adhieren al sitio activo restringiendo la actividad catalítica de la enzima. Este tipo de proteína ha sido ampliamente estudiada ya que la tripsina cumple un papel importante en la digestión de animales mono gástricos. Estas moléculas se encuentran generalmente en la semilla de los vegetales. Estas pueden ser de bajo o alto peso molecular (Liener, *et al.*, 1994).

Las leguminosas como el frijol soya contienen un buen aporte nutricional ya que contienen gran cantidad de grasas y proteínas esenciales para el organismo, sin embargo están presentes este tipo de proteínas (inhibidores de tripsina) que hacen que su consumo sea limitado, ya que impide la digestión y el aprovechamiento de los nutrientes y aminoácidos para los diferentes procesos biológicos (Camean *et al.*, 2007).

El presente trabajo busca la manera de eliminar o disminuir la cantidad de inhibidores de tripsina presentes en el frijol soya con el objetivo de mejorar su asimilación y aprovechamiento en la dieta de animales monogástricos. Para ello se evaluaron diferentes condiciones de temperatura y tiempo en el proceso de cocción que permitieron obtener un producto con bajas concentraciones de inhibidor de tripsina sin afectar la calidad de la soya y encontrando de esta manera el tiempo como factor determinante para este proceso.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria de alimentos concentrados para animales en Colombia viene usando desde hace más de 30 años el frijol soya como una de las materias primas principales en la producción de alimentos concentrados de alta calidad. El crecimiento de esta cosecha se ha visto aumentado en las últimas décadas y de acuerdo a un estudio realizado por la WWF (Organización de conservación más grande del mundo) en los últimos 50 años el uso de esta proteína ha crecido 10 veces, llegando a cosechar en 2012, 269 millones de toneladas de este grano. En Latinoamérica y en el mundo se ha visto un crecimiento anual cercano al 3% y se estima que la cosecha de este grano siga aumentando a una razón del 2,2% anual a 2030 (Solton *et al.*, 2014; García *et al.*, 2006), por lo que la demanda de frijol soya en las dietas elaboradas para alimentar aves de engorde también se ha venido aumentando las cuales pueden incluir hasta el 20% de esta leguminosa, lo cual lo hace un material altamente deseado (Hurtado *et al.*, 2003; Peláez *et al.*, 2010)

Pero esta materia prima presenta un inconveniente ya que en su estado natural tiene diferentes factores anti nutricionales que están presentes en altas concentraciones, los cuales al ser ingeridos por los animales causan severos problemas a nivel intestinal, diarreas intensas, mala absorción de los nutrientes e incluso la muerte. Estos factores anti nutricionales en especial el inhibidor de tripsina ha sido ampliamente estudiado ya que afecta negativamente la utilización de proteínas, grasa y carbohidratos a nivel intestinal y se manifiestan en una mala digestibilidad, (Albarracín *et al.*, 2006; Buitrago *et al.*, 1992).Lo cual genera pérdidas económicas de hasta un 40% en la rentabilidad final de las granjas.

Diferentes estudios han tratado este tema, buscando generar mejoras en los procesos de cocción que puedan ayudar a garantizar una materia prima de alta calidad, sin embargo continua siendo en Colombia un reto para los productores de alimentos concentrados. Por lo que realizar un tratamiento térmico a la soya mejora sus niveles nutricionales ya que desnaturaliza la proteína y destruye los factores anti nutricionales que son termolábiles (Campabadal *et al.*, 1985).

Por lo cual esta investigación quiere determinar, las condiciones de temperatura y tiempo de cocción más favorables para lograr la mayor inactivación de los inhibidores de tripsina presentes en el frijol soya sin afectar la calidad y la digestibilidad de este alimento.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto se enfoca en determinar las condiciones favorables de temperatura y tiempo para lograr un correcto procesamiento del frijol soya ya que no se cuenta con un parámetro establecido como punto de partida que permita garantizar la inactivación de los factores anti nutricionales del frijol soya y que a su vez no afecten su digestibilidad, lo cual garantizaría una correcta cocción de la materia prima obteniendo un producto de alta calidad y alta digestibilidad.

Esto a su vez se verá reflejado en las ganancias de peso de las aves ya que afectaran positivamente la digestibilidad y absorción de los nutrientes tales como proteína, aminoácidos y grasas lo que influirá en las ganancias de peso /ave día que de acuerdo a la dieta y a la genética pueden llegar hasta los 80g diarios en las últimas 2 semanas (Peláez *et al.*, 2010) lo cual según el reporte de FENAVI del primer semestre de 2018 en encasamiento de aves fue de 419 millones que multiplicado por esta ganancia diaria reportada anteriormente estaríamos hablando de pérdidas de cerca de 33 mil toneladas de carne (Fenavi 2018)

Por lo cual este estudio busca determinar las mejores condiciones para realizar el procesamiento del frijol soya y lograr una correcta inactivación del inhibidor de tripsina, el cual se ha demostrado que cuando su concentración es superior a los 2mg/g las ganancias de peso de las aves pueden disminuir hasta en un 40% es decir hasta 200g por ave al finalizar el ciclo lo que en una granja pequeña de 20 mil aves se traduciría en pérdidas de 4000Kg aproximadamente (Hoffmann *et al.*, 2019).

Según lo mencionado anteriormente la importancia de esta investigación radica, entonces, en el impacto que pudiera tener en la industria de alimentos balanceados ya que serían muchas las empresas que se verían beneficiadas al obtener los mayores rendimientos usando un frijol soya con alto valor nutricional y bajos niveles de factores no deseados, generando así mayores utilidades económicas en cuanto a las ganancias de peso en las aves, con menores costos de producción al establecer las condiciones de proceso más favorables

### **3. OBJETIVOS**

Determinar las condiciones más favorables de temperatura y tiempo en el proceso de cocción del frijol soya realizando el análisis cuantitativo de inhibidor de tripsina para mejorar la calidad y disponibilidad de sus nutrientes.

#### **3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Identificar las condiciones iniciales de proceso de cocción, realizando una inspección de los parámetros en la planta de proceso de la empresa patrocinadora y caracterizar el frijol soya crudo.
- Evaluar la influencia de la temperatura y el tiempo en el proceso de cocción de frijol de soya sobre el inhibidor de tripsina.
- Analizar la relación que existe entre la proteína soluble en KOH y los inhibidores de tripsina como medida de control de calidad del proceso de cocción del frijol soya.

## **4. MARCO CONCEPTUAL Y TEORICO**

El presente trabajo brinda una idea más profunda y técnica de la importancia de desarrollar un estudio donde se analicen las variables más importantes presentes en el proceso de cocción del frijol soya abordando diferentes temáticas como la cosecha de esta leguminosa, el proceso de cocción, los factores anti nutricionales presentes en el frijol soya, la tripsina y su importancia bioquímica, la determinación del grado de actividad del inhibidor de tripsina como parámetro de calidad de la industria y su uso en la fabricación de alimentos balanceados para animales.

### **4.1 GENERALIDADES DEL FRIJOL SOYA**

El frijol soya es la leguminosa con mayores cosechas en muchos países del mundo tales como estados unidos, Brasil, Argentina, China y diferentes países latinoamericanos prefieren este ingrediente como fuente de proteína. Su cultivo ha crecido en los últimos años y se estima que en el mundo se siembran más de 130 millones de toneladas métricas, que año a año crecen con el aumento de la población.

El frijol soya es cosechado en gran cantidad debido a sus muchas ventajas como sus características agronómicas, el retorno a la inversión para los granjeros es bueno y se obtiene una proteína de alta calidad, además de que es una rica fuente de aceite.

El factor precio de esta leguminosa es muy importante ya que muchos de los usos de la proteína y del aceite son negociados en la bolsa como futuros lo que hace que esta leguminosa tenga una alta demanda y sea distribuida hacia muchas partes del mundo (Asbridge *et al.*, 1994).

Aunque está clasificada como una planta oleaginosa ya que de ella se extrae gran cantidad de aceite de soya, también es principalmente usada como fuente de proteína en especial en la industria de alimentos balanceados gracias a sus altos rendimiento en la formación de proteína por hectárea en especies como ganado, aves y cerdos. NO por nada en el siglo pasado fue considerada que sería la mayor fuente de alimentación del siglo XXI (Olarie *Et al.*, 2017).

#### **4.1.1 Cultivo de soya en Colombia**

En Colombia el cultivo del frijol soya ha tenido altibajo que ha estado estrictamente ligados con las políticas gubernamentales en donde de su extensión sembrada ha variado de acuerdo a las posibilidades y ayudas del gobierno. Por ejemplo hacia el año 1990 se

sembraron en Colombia poco más de 116 mil hectáreas, las cuales se vieron fuertemente afectadas ya que para el año 2002 con las políticas agrarias disminuyeron a 18 mil hectáreas. Fue hasta el año 2001 al 2004 donde las cosechas aumentaron a cerca de 42 mil hectáreas cifras que difícilmente podrían satisfacer la demanda nacional que para la época alcanzaba las 900 mil toneladas al año, por lo que la mayoría de frijol usado en el país provenía de países como estados unidos, argentina, Brasil y Paraguay que para la época ya eran potencias en cuanto a siembra cosecha y exportación de esta materia prima.

Si bien es cierto hoy en día estas cosechas no han aumentado considerablemente ya que según reportes del DANE para 2012 el área cultivada era de 45 mil hectareas, en 2015 se vio una disminución importante hasta caer a 25 mil hectáreas, ya que la gran mayoría de frijol usado en el país proviene de las exportaciones debido a las bajas productividades y competitividad de los cultivos, en parte por los altos costos de producción y los bajos rendimientos de la planta debida a la falta de apoyo técnico, conocimiento y manejo del cultivo (Olarte *Et al.*, 2017).

Sin embargo el uso en Colombia si se ha visto incrementado año a año tanto así que se pasó de importar casi 300 mil toneladas en 2012 a tener un máximo de importación en 2015 de poco más de 580 mil toneladas, lo que inevitablemente genera un reto grande para todos los procesos térmicos desarrollados en el país enfocados a cocinar el frijol soya y aumentar su valor nutricional (Fenalce *et al.*, 2017).

#### 4.1.2. Productos derivados de la soya

Una de las fracciones más importantes del frijol soya es su aporte proteico y es por esta razón que es una leguminosa tan apetecida y utilizada hoy en la industria de alimentos. Muchos productos derivados de la soya están disponibles hoy en el mercado tales como los descritos en la tabla1:

**Tabla 1:** Principales productos de soya

Principales productos de soya
Derivados con y sin cascara
Harina de soya con y sin grasa
Harina de soya lecitinada
Aislado de soya



---

Concentrados de soya

---

Leche de soya

---

**Fuente:** Rackis, J. Anderson, L. Sasame, A. Smith, K. Vanetten, C. Soy bean amino acids in soybean hulls and oil meal fractions. (1961).

Todos estos productos tienen una alta demanda desde la industria de alimentos para humanos, hasta la industria de alimentos balanceados para animales.

El perfil de aminoácidos del frijol soya también es muy amplio es una leguminosa con altas cantidades de ácido glutámico, ácido aspártico, arginina, leucina y lisina aminoácidos indispensables en el desarrollo celular (Rackis *et al.*, 1961).

## **4.2 CARACTERIZACION DEL FRIJOL SOYA**

Una de las características agronómicas más importantes es la capacidad del frijol soya de tomar el nitrógeno del aire y convertirlo en nitrógeno aprovechable para la planta, esto se da gracias a la relación simbiótica entre la planta y una bacteria, la cual es la encargada de convertir el nitrógeno en la atmósfera en nitrógeno disponible (Asbridge *et al.*, 1994)

### **4.2.1 Características físicas**

El frijol soya tiene una forma esférica que varía dependiendo del crecimiento y de las condiciones de cultivo. Está compuesto por 3 partes principalmente la cubierta o cascarilla, los cotiledones (dos) y el germen. Es en los cotiledones donde se concentra la proteína y la grasa en forma de aceite y cuerpos proteicos (Perkins *et al.*, 1995). La figura 1 muestra una vista del frijol soya y sus diferentes partes.

**Figura 1:** Vista del frijol soya y sus partes. a). vista lateral; b) vista de un frijol abierto donde se observan los dos cotiledones; c) Vista frontal.



Fuente: El autor

#### 4.2.2 Características químicas.

La composición química del frijol es variable dependiendo de aspectos como la cosecha, el sitio de siembra, o el origen.

La proteína y la grasa se encuentran presentes en el cotiledón y pueden ir desde 33 hasta 36% para la proteína y desde 19 hasta 22 % para la grasa.

En la tabla 2 se muestran los parámetros bromatológicos para la soya integral.

**Tabla 2:** Composición bromatológica del frijol soya cocido

PARAMETRO	NOMINAL	TOLERANCIA
HUMEDAD		MAX 11
PROTEINA BRUTA	36,3	+/-2
EXTRACTO ETereo	19,8	+/-2
FIBRA BRUTA	5,3	+/-1,5
CENIZAS		MAX 6
ACT. UREASICA		MAX 0,1
PB SOLUBLE EN KOH 0,2% o 0,036N	79	+/-6

Fuente: Normas FEDNA. Especificación de materias primas. Concentrados de proteína vegetal. Haba de soja procesada. Disponible en: [http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/4\\_Concentrados\\_prote%C2%A1na\\_vegetal.pdf](http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/4_Concentrados_prote%C2%A1na_vegetal.pdf). Consultado el: 02 de abril de 2019

La diferencia bromatológica entre el frijol soya crudo y la soya integral (grano cocido) radica en la proteína soluble en KOH en los factores anti nutricionales y en la humedad ya que en el frijol soya crudo los valores de estos parámetros son más altos.

De igual manera el frijol soya es una rica fuente de aceite ya que cerca del 20% de su estructura está compuesta por grasa con un amplio y rico perfil graso (tabla 3) en el que se obtienen ácidos grasos tales como:

**Tabla 3:** Perfil de ácidos grasos del aceite de soya

<b>Saturados</b>	
<b><u>Ácido graso</u></b>	<b><u>%</u></b>
Acido palmítico	7 a 12
Acido esteárico	2 a 5
Acido araquidónico	1
<b><u>Insaturados</u></b>	
<b><u>Ácidos grasos</u></b>	<b><u>%</u></b>
Ácido palmitoleico	20 a 50
Ácido oleico	33 a 60
Ácido linoleico	2 a 13
Ácido eicosenoico	1

Fuente: Rackis, J. Anderson, L. Sasame, A. Smith, K. Vanetten, C. Soy bean amino acids in soybean hulls and oil meal fractions. (1961).

#### **4.2.3. Solubilidad de la proteína en KOH 0,2%**

Existen algunos parámetros en la industria de los alimentos que permiten conocer el estado de procesamiento del frijol soya, si bien el más usado a nivel industrial es la medición de la actividad ureasica debido a su facilidad, rapidez y bajo costo, este análisis no permite conocer el estado de sobre procesamiento que ha tenido un frijol soya.

El objetivo de realizar la cocción del frijol es eliminar los factores anti nutricionales presentes en el grano esta información al detalle se verá en el siguiente capítulo. Sin embargo es importante mencionar que así como la temperatura ayuda a mejorar las características nutricionales del frijol también un excesivo procesamiento puede incurrir en el deterioro del mismo ya que afecta los aminoácidos en especial a la lisina lo que hace que quede menos disponible para su absorción (Dale. *et al.*, 1988).

Es por esto que el Dr Keith Rinehart mientras trabajaba en purina desarrolló una técnica nunca publicada basada en el cálculo de la proteína soluble en una solución de KOH al 0,2%. Si bien el frijol soya crudo puede tener una solubilidad que varía desde el 90 hasta el 100%. A medida que se va aplicando un tratamiento térmico esta solubilidad disminuye. Se han estudiado los efectos de la solubilidad en la harina de soya encontrándose que cuando se tienen valores por encima del 85% estaría ante un caso de un mal procesado y cuando tenemos una proteína soluble menor al 75% podría empezar a presentarse sobreprocesamiento. (Dale. *et al.*, 1988).

Posteriormente el profesor Araba e colaboración con Dale en la universidad de Giorgia desarrollarían la metodología para realizar la determinación del porcentaje de proteína soluble en KOH 0,2% y poder establecer esto como parámetro de calidad en el procesamiento de harinas de soya y frijol soya y tener una idea más generada y acertada sobre el proceso, teniendo en cuenta la limitante que se presenta con el análisis de ureasa (Araba. *Et al.*, 1988)

¿Pero porque medir y controlar el solubilidad en KOH? Esta se ha convertido en una de las mediciones de control calidad más habituales y realizadas en las plantas de alimentos balanceados para garantizar un buen proceso de cocción del frijol soya. Es decir la atención se centra en obtener un frijol que no tenga una solubilidad en KOH muy baja (quemado) pero puede ocurrir que por controlar este parámetro se descuiden los factores anti nutricionales que deben ser la prioridad en este proceso.

### **4.3 Tripsina y factores anti nutricionales del frijol soya.**

La tripsina es una serín proteasa con una estructura molecular que normalmente tiene un peso de 24 kDa. Esta enzima es producida en el páncreas y secretada como un inactivador del tripsinógeno.

El tripsinógeno es inactivado por las enteropetidasa en el intestino y por actividad de la tripsina. La tripsina activa a la quimotripsina y otra pro enzimas pancreáticas. (Rungruangsak *et al.*, 2000 & Torrissen *et al.*, 1991).

La principal función de la tripsina es la de hidrolizar las proteínas en pequeños péptidos o en aminoácidos.

La tripsina es una proteasa digestiva y al igual que la quimotripsina tiene como responsabilidad realizar la digestión de la proteína en los alimentos en el intestino delgado. La función proteolítica de esta enzima ha sido usada en la química de proteínas, en la proteómica y en la búsqueda de nutrientes. (Whitaker *et al.*, 2003)

Su correcto funcionamiento está influenciado por los sustratos, el medio como el pH, la temperatura y la presencia de inhibidores de tripsina que median la reacción enzimática.

#### 4.3.1 Factores anti nutricionales

Si bien el frijol soya es una fuente rica de proteína con amplios usos tanto en la alimentación humana como en la alimentación animal presenta un inconveniente significativo como lo es la presencia de diferentes factores anti nutricionales o FAN's (por sus siglas en inglés) (ver tabla 4) que dificultan la absorción de sus nutrientes y hacen la proteína menos digestible.

Estos factores anti nutricionales suelen clasificarse según la resistencia que presentan a los tratamientos con temperatura de acuerdo a la siguiente tabla (Peisker *et al.*, 2001 & Sarwar *et al.*, 2015):

**Tabla 4:** Factores anti nutricionales presentes en la soya.

Termolábiles	Termo resistentes
Inhibidor de tripsina	Saponinas
Lectinas	Estrogenos
Goitrogenos	Cianogenos
Ureasa	Fitato
	Oligosacaridos
	Antigenos

**Fuente:** Peisker. M, Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. (2001)

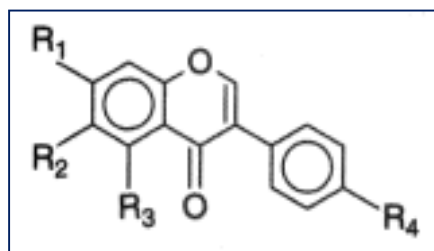
Los FAN's termolábiles causan problemas como la inactivación de la tripsina y la quimiotripsina generando baja digestibilidad de la proteína, también causan aglomeraciones de los glóbulos rojos y el último puede producir agrandamiento de la glandula tiroides. Los 3 pueden ser controlados o eliminados con un tratamiento térmico adecuado usando cualquier de los métodos actuales, ya sea por un proceso de cocción con agua directa, un proceso de extrusión a altas temperaturas un proceso de tostado con vapor o por microondas

#### 4.3.2 Inhibidor de tripsina

Los inhibidores de enzimas como la tripsina, el quimo tripsina, la elastasa y las alfa-amilasas se encuentran presentes en muchos alimentos que incluyen desde leguminosas hasta cereales. Estos inhibidores de las enzimas, causan serios problemas en la ingestión y la asimilación de los nutrientes para dietas de mamíferos y aves. Este inhibidor presente en el frijol soya es muy específico para la tripsina pero no necesariamente es la única enzima que inactiva ya que también tienen efectos adversos en enzimas como la quimiotripsina, la elastasa y otro tipo de enzimas llamadas serín proteasas (Sarwar *et al.*, 2005).

La estructura del inhibidor de tripsina es descrita a continuación:

**Figura 2:** Estructura química del inhibidor de tripsina



Fuente: Peisker. M, Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. (2001)

Dependiente de que sustituyente tengamos en en cada uno de los anillos, tendremos un diferente efecto bioquímico, sin embargo son las todas las unidades en las que se puede expresar el inhibidor de tripsina (tabla 5).

**Tabla 5:** Isoflavonoides del frijol soya.

Isoflavonoides	R1	R2	R3	R5
Geinisteina	OH	H	OH	OH
Genistina	O-Glucosil	H	OH	OH
Daidzeina	OH	H	H	OH
Daidzina	O- Glucosil	H	H	OH
Gluciteina	OH	O-CH3	H	OH
Gliciteina 7-O-B- glucosidico	O-Glucosil	O-CH3	H	OH

Fuente: Peisker. M, Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. (2001)

Existen dos tipos de inhibidores de tripsina uno con un peso de 21,5 Kdalton el cual contiene 2 puentes di sulfuro y que posee una especificidad para la tripsina (Inhibidor de Kunitz), el otro inhibidor tiene un peso de 8kDa con un alto nivel de enlaces di sulfuro y la capacidad de inhibir quimotripsina y la tripsina en sitios de enlace diferentes (Inhibidor de Bowman-Birk) (Liener, *et al.*, 1994).

Los inhibidores de tripsina se encuentran principalmente en los cotidellones envueltos en los cuerpos proteicos es por eso que es uno de los factores anti nutricionales más difíciles de desactivar en los procesos térmicos ya que la exposición a la temperatura debe ser mucho mayor para alcanzar el interior del frijol (Gatel, *et al.*, 1994).

Normalmente las concentraciones de los inhibidores de tripsina en un frijol soya crudo pueden variar desde los 17 hasta los 48mg/g, estas moléculas a esas concentraciones son toxicas para el consumo de animales mono gástricos. Es por eso que se hace necesario realizar un tratamiento térmico al frijol de tal manera que garantice que estos inhibidores sean reducidos al máximo o eliminados.

Diferentes metodologías de tratamiento térmicos han sido estudiadas tales como la cocción usando agua o vapor directo, la extrusión con exposición a altas temperaturas y tiempos de tratamientos cortos, el tostado o métodos más modernos como la radiación infrarroja o micronización. Todos estos procesos van a tener unas variables de control que deberán ser ajustadas de acuerdo a los niveles de inhibidores de tripsina presentes en el frijol crudo (Friedman, *et al.*, 2001).

El consumo de inhibidores de tripsina causa a nivel intestinal causa a nivel biológico inhibición de la quimotripsina que es actividad por al tripsina, hipertrofia del páncreas y aumento de las células acinares, lo que incrementa la secreción de enzimas digestivas, lo que soporta la hipótesis de la pérdida endógena de aminoácidos en forma de enzimas siendo secretadas por la hiperactividad del páncreas.

#### **4.3.2.1 Efectos de los inhibidores de tripsina en dietas para animales.**

La demanda por fuentes ricas en proteína ha incrementado rápidamente así como el interés sobre las leguminosas como fuente de estas proteínas. Sin embargo el frijol contiene proteína, almidón, grasa en su fracción nutritiva pero también tiene factores anti nutricionales como los inhibidores de tripsina.

La presencia de estos inhibidores de proteasa ha mostrado que son responsables de la disminución de la actividad enzimática digestiva, causan hipertrofia del páncreas y reducen el crecimiento de los animales. (Robert, *et al.*, 1985). Como por ejemplo en algunas dietas para peces que incluían torta de soya hasta en un 50% de la formulación, Robinson *et al.* (1981) demostró la hipertrofia producida en el páncreas de alevinos que consumieron dietas con altos niveles de inhibidor de tripsina, lo cual generó una reducción en el crecimiento de los peces y pérdidas de valor (Robinson, *et al.*, 1981)

Rohe y colaboradores, estudiaron la respuesta del sistema inmune en pollos de engorde cuando consumían dietas ricas en esta leguminosa, encontrando así como respuesta del sistema digestivo aumentar las células T en la región intraepitelial del yeyuno cuando se consumían factores anti nutricionales, lo cual disminuye la absorción de nutrientes.

Otros experimentos desarrollados en ratas y en pollos que fueron tratados con dietas suplementadas en su mayoría con torta de soya con inhibidor de tripsina puro, mostraron que depresión en el crecimiento de las aves no era significativa pero sin embargo el IT si era el responsable de causar la hipertrofia del páncreas ya que la actividad proteolítica en el intestino delgado se veía altamente disminuida. Esto sugiere que la quimotripsina fue inactivada durante el procedimiento de digestión peptídica, lo cual no permitió realizar la hidrólisis de los aminoácidos presentes en las proteínas ingeridas por la dieta lo cual genera una mala digestibilidad de los nutrientes.

En estos experimentos curiosamente se encontró que el páncreas de pollos y ratas entraba en un proceso de adaptación a la harina de soya cruda, en donde iniciaba la síntesis de mayores cantidades de tripsinógeno y quimotripsina y menos amilasa. Lo que



permite inferir claramente que el inhibidor de tripsina no era el mayor factor en el disparate crecimiento causado por este ingrediente crudo. (Birk *et al.*, 1984)

#### **4.4 TRATAMIENTOS TERMICOS DEL FRIJOL SOYA**

Industrialmente existen diferentes tratamientos térmicos capaces de reducir los niveles de factores antinutricionales del frijol soya.

Entre los más importantes se destacan procesos como la cocción, la extrusión el tostado con variables como el tiempo, la temperatura, la cantidad de agua o vapor, la presión. Las cuales que dependiendo del objetivo reducirán más o menos los factores anti nutricionales.

Este proyecto enfoca sus esfuerzos en estudiar el proceso de cocción usando agua directa, una temperatura moderada en sus inicios y alta en las siguientes etapas del proceso y unos tiempos largos.

##### **4.4.1 Proceso de cocción del frijol soya**

De acuerdo a algunos autores el tratamiento térmico con vapor húmedo o seco es el más eficiente para desactivar el inhibidor de la tripsina presente en diferentes tipos de granos y leguminosas (Kaur, *et al.*, 2012). De igual manera se ha comprobado que tratando el frijol con agua directa ya sea a temperatura ambiente como especie de remojo o con agua directa en el cocedor, se mejora la inactivación de los factores anti nutricionales. Este tratamiento con agua puede ser más efectivo para remover los inhibidores de proteasa (Bayram, *et al.*, 2004).

El proceso de cocción se realiza a través de un reactor hidrotermico que simula el efecto de estar cocinando el frijol en una olla a presión que dependerá de la capacidad de la máquina. Estos sistemas normalmente están divididos en varios módulos o cámaras, las cuales se encuentran enchaquetadas, por donde pasa vapor caliente lo que mantiene alta la temperatura del equipo (Harish, *et al.*, 2015)

En la primera cámara se lleva a cabo la inyección del agua (figura 3) directamente sobre el frijol y se mantienen en agitación constante durante un determinado tiempo es quizás la etapa más importante porque es donde realmente se lleva a cabo la cocción del material, por lo cual es importante poder mantener una temperatura alta y controlada y de esta manera optimizar los tiempos de proceso. Posteriormente el grano pasa a otro

de los módulos donde únicamente hay vapor enchaquetado y se mantienen en agitación durante otro tiempo. De manera sucesiva se realiza el proceso en todas las cámaras del equipo hasta finalmente salir del cocedor.

En este punto del proceso, el frijol tiene un humedad superior al 20% la cual es eliminada al pasar por la enfriadora, donde por un flujo de aire a contra corriente cumplirá dos funciones eliminar el exceso de humedad y bajar la temperatura (ver figura 4). (Farfán, *et al.*, 2014).

**Figura 3:** Imagen de dos cocedores de frijol soya.



Fuente: Desingltda, disponible en: <http://desingltda.com/frijolsoya.html>). Consultado 31 de marzo de 2019.

**Figura 4:** Esquema general de una planta cocedora de frijol,



Se muestran las respectivas partes del proceso, Tolvas de frijol soya crudo, cocedores, enfriadora, ciclón y tolvas de recibo del frijol cocido.

## **5. METODOLOGIA**

En esta sección se encuentra el procedimiento a llevar a cabo para dar cumplimiento a los objetivos planteados en este proyecto. De igual manera se encuentra explicada toda la metodología y el diseño experimental seleccionado para hacer el análisis estadístico de los resultados.

### **5.1 INSPECCION DE PARAMETROS DE PROCESO Y MATERIA PRIMA UTILIZADA.**

Lo primero que se realizó fue conocer cuál es el punto de partida del estudio cuales van a ser los rangos de trabajo y las características de la materia prima usada.

La planta de proceso de la empresa patrocinadora cuenta con 8 equipos cocedores de marca y fabricación nacional. Cada equipo se divide en 5 compartimientos, los cuales cuenta con una chaqueta en el fondo por donde es inyectado vapor. Durante la inspección se registrara la presión del vapor de entrada usado para el calentamiento. La temperatura del agua usada en la cocción, la temperatura de las cámaras del cocedor y los tiempos de residencia en el equipo.

#### **5.1.1 Identificar los parámetros actuales de proceso**

Se verificaron las condiciones actuales de trabajo en la planta de cocción de frijol soya identificando a través de las lecturas en el panel de control y los históricos registrado la temperatura de la cámara 1 ( ver apartado 4.4.1 en el marco conceptual), la temperatura máxima y mínima que se han registrado, el tiempo de cocción actual de proceso y los tiempos máximos y mínimos registrados.( el cual es el mismo para las 5 cámaras del equipo cocedor, pero con la opción de ser modificado de manera independiente por cámara).

#### **5.1.2 Caracterización de la materia prima**

La materia prima es importada desde estados unidos recibida en barco en los puertos de Colombia y trasladada a la planta de proceso por medio de tractomulas. En un día normal de descargue se pueden recibir entre 20-30 tracto mulas con frijol soya crudo.

Para los fines de este estudio se eligió aleatoriamente un día de trabajo en el que se

recibieron 24 tractomulas. Es importante mencionar que toda esta materia prima corresponde a la misma importación, es decir sus parámetros bromatológicos y físicos se esperas sean muy similares.

Los análisis bromatológicos básicos realizados fueron los siguientes:

#### **5.1.2.1 Análisis físicos**

Este numeral hace referencia a los análisis físicos realizados a la materia prima, tales como:

Los procedimientos a continuación se ejecutaron luego de haber cuarteado la muestra, garantizando que es representativa del lote en estudio.

- **Determinación de impurezas:** Se tomó una muestra de 500g, se tamizó usando una criba de agujero oblongo de 2,5mm y se retiró todo el material extraño diferente al frijol, posteriormente se pesó y se calcula el porcentaje.
- **Determinación de grano partido:** se tomó una muestra de 500g, se tamizó usando criba de agujero oblongo de 2,5mm y se determinó el porcentaje de granos partidos.
- **Determinación de grano verde:** Se tomó una muestra de 100g y manualmente se clasificaron los granos que presentaron tonalidad verdosa. Se procedió a pesar y calcular el porcentaje.

Para realizar los análisis bromatológicos por química humedad se conformó un pool de muestra de todas las 24 tracto mulas recibidas. Es decir, se tomó 1Kg de muestra de cada tracto mula se agregó en un recipiente y así sucesivamente con todas las muestras. Posteriormente se homogenizó, se cuarteó hasta obtener una muestra de 1Kg. La cual fue pre molida usando un molino Rommer y luego molida nuevamente usando un molino Restch ZM200 con una criba de 0,5mm hasta obtener la granulometría específica para realizar los análisis

#### **5.1.2.2 Análisis de humedad.**

La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos de la norma NTC 529: *Cereales y producto de cereales. Determinación del contenido de humedad.*

#### **5.1.2.3 Análisis de grasa.**

La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos de la norma NTC 4969: *Alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa*

#### **5.1.2.4 Análisis de cenizas.**

La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos de la norma NTC 4648:

## *Alimento para animales. Determinación de ceniza cruda*

### **5.1.2.5 Análisis de proteína.**

La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos de la norma NTC 4657: *Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo de la proteína cruda*

### **5.1.2.6 Análisis de proteína soluble en KOH 0,2%**

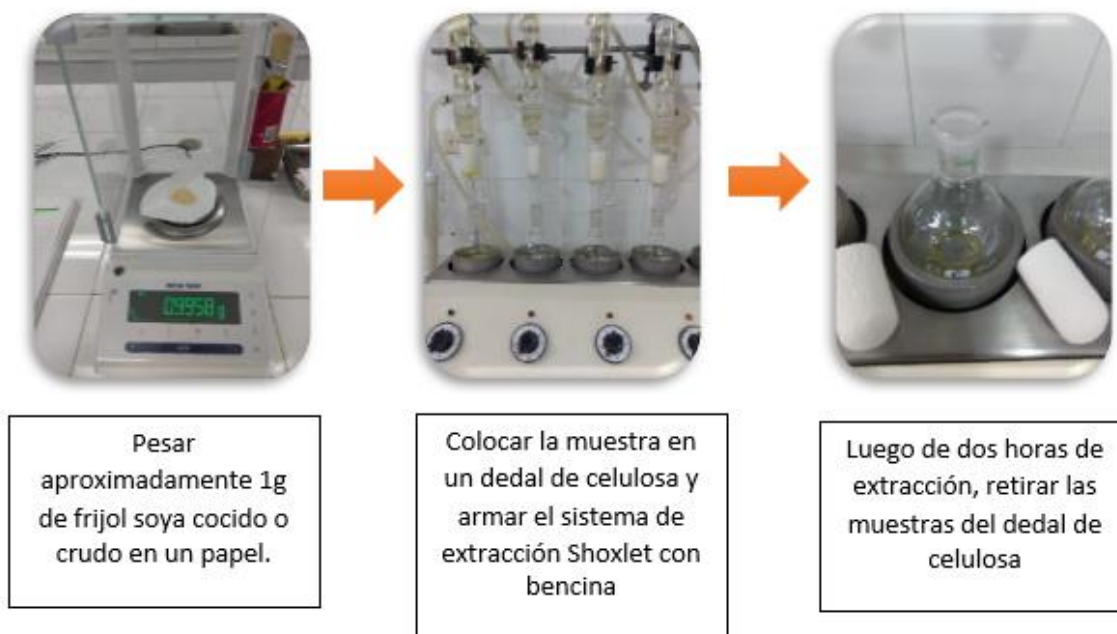
La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos de la norma NTC 3682: *Alimento para animales. Determinación del contenido de proteína soluble en KOH 0,2%*

### **5.1.2.7 Análisis de Inhibidor de tripsina.**

La determinación se realizó de acuerdo a los lineamientos del método 71-10 de la AACC: *Determinación del contenido de inhibidor de tripsina en productos de soya.*

Para realizar el análisis de inhibidor de tripsina las muestras deben estar desengrasadas, ya que debido a los altos porcentajes de grasa (ver tabla 10) que tiene el frijol soya podría causar interferencias en la reacción enzimática. A continuación en la figura 7 se muestra un esquema del proceso

**Figura 5:** Sistema de extracción de grasa



Una vez retirada la grasa se procedió a usar las muestras para el análisis de inhibidor de tripsina ver figura 8.

**Figura 6:** Ejecución del análisis de inhibidor de tripsina



## 5.2 Evaluación del tratamiento térmico del frijol soya

Se evaluó la influencia del tiempo y la temperatura en el proceso de cocción del frijol soya para desactivar los inhibidores de tripsina. Esto se realizó mediante la ejecución de un diseño experimental factorial de  $2^2$  por triplicado en donde los factores fueron la temperatura y tiempo y la variable de respuesta es la concentración del inhibidor de tripsina como se observa en la figura 5.

**Figura 7:** Diagrama de flujo de los factores que intervienen en el proceso y la variable de respuesta.



### 5.2.1 Diseño experimental.

En el proceso de cocción del frijol soya por inyección de agua directa se tiene control sobre las variables de proceso tales como: tiempo de residencia en la cámara( $X_1$ ) y la temperatura en las diferentes cámaras( $X_2$ ). La variable de respuesta que es medida y

cuantificada fue la concentración de inhibidor de tripsina expresado en unidades de inhibidor de tripsina por mg de muestra ( $Y_1$ ).

La tabla 6 describe el diseño experimental factorial que fue llevado a cabo para el análisis de los datos:

**Tabla 6:** *Diseño experimental factorial.*

Factores	Niveles	Variable de respuesta
Temperatura	55°C (-1)	Inhibidor de tripsina (UIT/mg)
	85°C (+1)	
Tiempo	1240 Seg (-1)	
	1300 Seg (+1)	

### 5.2.2 Análisis de datos

Se realizó las siguientes corridas experimentales ( ver tabla 7) para evaluar el efecto de las variables de entrada sobre las variables de respuesta

**Tabla 7:** *Corridas experimentales.*

Corrida	Nombre	Condiciones de proceso		Código de variables	
		Tiempo (seg)	Temperatura (°C)	Tiempos, X1	Temperatura X2
1	(-1)	1240	55	-1	-1
2	(a)	1300	55	+1	-1
3	(b)	1240	85	-1	+1
4	(ab)	1300	85	+1	+1

La tabla 7 describe las corridas experimentales que se ejecutaron empezando con los

niveles más bajos de los parámetros de estudio, luego intercalándolos unos alto y uno bajo y finalmente una corrida experimental con los valores altos.

Para el análisis el diseño se empleó el software Statgraphic, el cual permitió realizar el análisis de ANOVA. A partir de este análisis se determinó el factor que tiene el mayor efecto sobre la variable de respuesta y el mejor modelo matemático que describa la relación entre las variables de entrada y de respuesta y a su vez el coeficiente de correlación. Estos datos se consideraran significativos cuando se tenga un  $p < 0,05$ . Estas variables de proceso fueron determinadas de acuerdo a las condiciones reales de funcionamiento del equipo.

### **5.3 Análisis de laboratorio.**

Las muestras fueron tratadas en el laboratorio. El procedimiento establecido para seguir este análisis y garantizar confiabilidad en los resultados es el siguiente:

#### **5.3.1 Recolección de las muestras de producto terminado**

Las muestras fueron recolectadas a la salida del equipo cocedor de frijol. En este punto de proceso el frijol sale con una temperatura aproximadamente de 40-50°C por lo que fue necesario dejar enfriar durante unos 30 minutos antes de empacarlas para evitar fenómenos de condensación. En total fueron recogidas 5 muestras de 1 Kg. una por cada compartimento al momento de la descarga. Con estas 5 muestras se conformó un pool, el cual fue homogenizado y cuarteado hasta disminuir el tamaño de la muestra a 1 Kg. De igual manera se procedió a recolectar las muestras cada vez que se cambiaba la temperatura o el tiempo de proceso de acuerdo al diseño experimental de la tabla 7.

#### **5.3.2 Análisis preliminares del producto cocido.**

El producto cocido fue sometido a análisis físicos preliminares para determinar los porcentajes de impurezas, humedad y grano partido. Los procedimientos llevados a cabo para realizar la caracterización física fueron los mismos que se describen en el numeral 5.1.2.1.

#### **5.3.3 Preparación de las muestras para análisis de química húmeda**

La muestra fue tratada en su totalidad considerando impurezas inherentes del material. Lo único que fue retirado son impurezas de gran tamaño como palos, hojas, trozos de metal y otros granos diferentes al frijol.



Para realizar los análisis de laboratorio la muestra fue molida previamente usando el molino Rommer y posteriormente molida usando el molino marca Retsch ZM 200 usando una criba de 0,5mm.

#### **5.3.4 Análisis por química húmeda.**

Luego de tener la muestra con la granulometría deseada se procedió a realizar los análisis bromatológicos de laboratorio descritos para la materia prima desde el numeral 5.1.2.2 hasta el 5.1.2.7

#### **5.4 Estudiar la correlación entre proteína soluble en KOH e inhibidor de tripsina.**

Una vez realizadas las corridas experimentales y se obtengan los resultados de química humedad. Se analizó si existe o no correlación entre los resultados de la proteína soluble en KOH y los inhibidores de tripsina. Para esto se usó el software statgraphics, en el cual se determinó el coeficiente de correlación y el modelo matemático que mejor describa la relación entre estas dos variables.

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó una visita de reconocimiento a la planta de cocción de frijol soya de la empresa patrocinadora con el objetivo de identificar el equipo cocedor de frijol usado para este proceso y las variables allí controladas.

### 6.1 Identificación del proceso

El equipo consiste en un reactor vertical cilíndrico conformado de 5 cámaras independientes con un sistema de chaquetas en la base de cada una de las cámaras, las cuales por acción del vapor calientan las cámara uno a una temperatura entre 50-90°C dependiendo del rendimiento de los equipos y la cantidad de materia prima allí ingresada.

La temperatura de las cámaras se puede controlar de manera indirecta a través de la presión de vapor que circula por las chaquetas generada por las calderas a gas de la empresa.

Los cocedores son cargados con una cantidad predefinida de frijol soya crudo e ingresado por parte la superior a la primera cámara. Allí la materia prima es asperjada con una cantidad predeterminada de agua caliente a una temperatura entre 90-100°C. Seguidamente y luego de cumplido el tiempo de residencia en la cámara, el frijol humectado pasa a la siguiente cámara de cocción en donde es expuesto a una alta temperatura entre 70-120°C sin inyección de agua. El proceso se repite hasta que llega a la quinta cámara en donde el frijol ya cocido y seco es descargado a la enfriadora. Antes de descarga a la enfriadora se toman muestras para análisis de laboratorio como perfil bromatológico y análisis más específicos de calidad inhibidores de tripsina, proteína soluble en KOH y análisis de ureasa

La enfriadora tiene como objetivo disminuir la temperatura del frijol hasta que sea más o menos 5°C en comparación con la temperatura ambiente y adicional también tiene una función secundaria la cual es la de eliminar rastros de la humedad superficial que pueda quedar en el frijol. Finalmente este frijol soya cocido es llevado a almacenamiento.

### 6.2. Parámetros operativos de planta.

La adición de frijol soya a los equipos cocedores se realiza por descargas de 450Kg a esta cantidad se le denomina el batch de cocción. Teniendo en cuenta esta cantidad de frijol el equipo cocedor tiene un rendimiento aproximado de 1000Kg/h de frijol soya cocido. La cantidad de agua inyectada es de 35Kg. La temperatura es controlada de manera indirecta por la presión de vapor que circula la chaqueta. Esta presión varía entre 90 y 110 PSI, lo cual puede variar la temperatura entre 40 y 80 °C.

El tiempo de cocción varía de acuerdo a la calidad del frijol crudo que ingrese al proceso, a su grado de maduración y a sus características físicas.

### 6.2.1 Resumen de parámetros operativos actuales de la planta de cocción

Una vez realizado el análisis del proceso se construyó un resumen con todas las variables que intervienen y que tienen una influencia directa sobre la cocción y sobre la calidad del producto final. Estos valores son mostrados en la Tabla 8

**Tabla 8:** Resumen de los parámetros actuales de proceso

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>
Cantidad de frijol	450 Kg
Cantidad de agua	35Kg
Temperatura del agua	90-100°C
Presión de vapor	90 PSI
Temperatura de cámara	40-90 °C
Tiempo de cocción por cámara	1240 Seg.
Temperatura a la salida de la enfriadora	30°C

### 6.3 CARACTERIZACION DE LA MATERIA PRIMA

El proceso de cocción utiliza como materia prima el frijol soya importado de origen americano, el cual es trasladado a Colombia en barcos llamados motonaves con capacidad de entre 5000-20000 toneladas.

Esta materia prima es descargada a tracto mulas y posteriormente trasladado a la planta de cocción de frijol. Una vez allí se realizan análisis preliminares que permitan conocer el estado inicial de la materia prima y tenerlo en cuenta al momento de entrar al proceso de cocción.

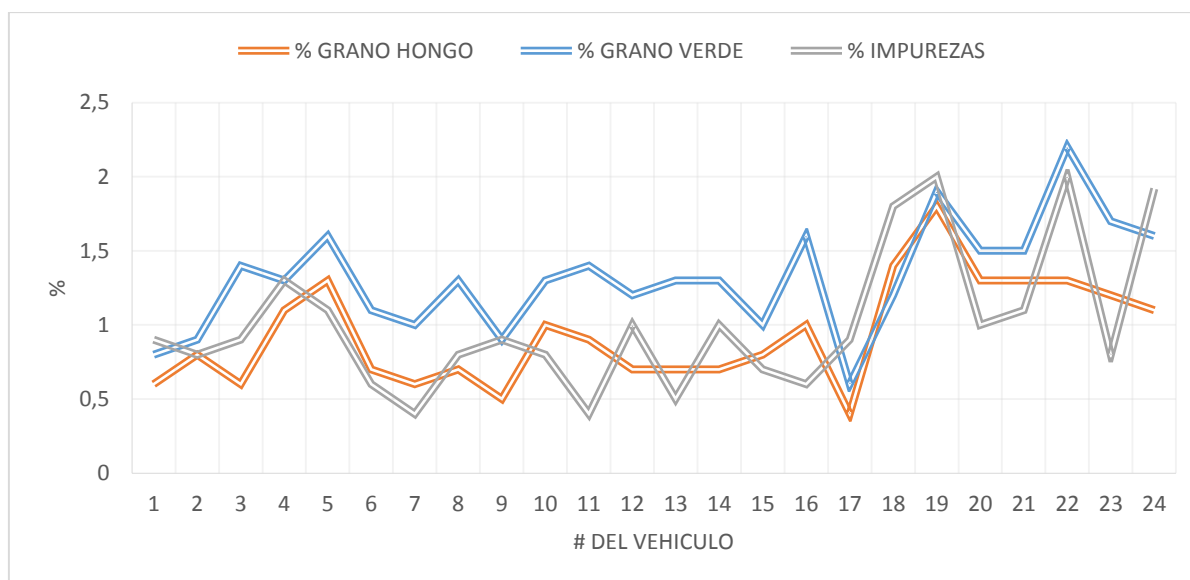
### 6.3.1 análisis físicos

Para realizar los análisis físicos de la materia prima se tomaron un total de 24 muestras una por cada tracto mula recibida en la planta de proceso. A estas muestras se le realizaron análisis de impurezas, grano partido, grado dañado por hongo y grano verde. Se obtuvieron los siguientes resultados en promedio.

**Tabla 9:** Resultados estadísticos del grano de frijol soya crudo

	% HONGO	% VERDE	% PARTIDO	% IMPUREZAS	Tº PRODUCTO	DENSIDAD
<b>PROMEDIO</b>	1,32	1,32	11,30	1,01	29,46	735,83
<b>MINIMO</b>	0,60	0,60	6,20	0,40	24,01	725,00
<b>MAXIMO</b>	2,20	2,20	22,60	2,00	34,69	762,00
<b>DESV. ESTANDAR</b>	0,36	0,36	3,86	0,47	3,62	8,98

**Figura 8:** Comportamiento de las variables físicas del grano. Grano verde, Grano con hongos e impurezas.



Se observa que a lo largo del recibo de la materia prima las características físicas son muy variables y no conservan una tendencia definida. Tanto para los parámetros de grano dañado o afectado por hongo, granos verdes e impurezas los resultados oscilan entre 0,4% y 2,2%, Esto es un factor a tener en cuenta al momento de realizar la cocción del frijol. Y que al tener un frijol con alto % de granos verdes, los inhibidores de tripsina tenderán a ser más altos y por consiguiente las variables de proceso también deberán ser re consideradas.

Las impurezas son todos aquellos materiales diferentes al frijol soya. Es común encontrar trozos de palos, cascarilla del mismo frijol otros tipos de granos como maíz o trigo e incluso pequeñas piedras. Este es otro factor a tener en cuenta al momento de la cocción, ya que estas afectan la distribución del calor en el proceso debido a que intercambian masa de frijol en la cámara por masa de otros materiales diferentes.

### 6.3.2. Análisis químicos

Siguiendo las técnicas analíticas mencionadas en la metodología se realizaron los análisis químicos de la materia prima sin cocción arrojando los siguientes resultados para el perfil bromatológico mostrados en la tabla 10.

**Tabla 10:** Resultados Bromatológicos para el frijol soya crudo.

	% PROTEINA	% GRASA	% CENIZA	% PROTEINA SOLUBLE EN KOH 0,036N	% HUMEDAD
Promedio	34,59	19,66	5,58	90,10	11,70%
Desv. Estand.	0,505	0,393	0,150	1,212	0,172

Se analizó 1 muestra de frijol soya crudo por triplicado. De acuerdo a la fundación española para el desarrollo de la nutrición animal FEDNA y sus análisis mostrados en la tabla 2 se pudo observar que los valores obtenidos se encuentran dentro de las variaciones normales para esta materia prima. En la tabla 2 se menciona un % de proteína soluble en KOH de 79% +/- 6%, sin embargo este resultado es para frijol soya cocido a diferencia del que se muestra en la tabla 10 donde se analizó como punto de partida la solubilidad del frijol soya crudo, la cual dio un valor de 90%.

La mayoría de investigaciones no reportan el valor de la solubilidad o el valor del inhibidor de tripsina desde el que parten sus estudios, por lo que no es común encontrar estos parámetros para frijol soya crudo adicionalmente los procesos de tratamiento térmico se dan a nivel de laboratorio usando sistemas de autoclave simulando un proceso de cocción industrial como por ejemplo, Araba (1990) realizó un proceso de tratamiento térmico del frijol soya, pero inicialmente hace referencia a las bondades del frijol en su estado natural y refiere que cuando el frijol se encuentra crudo de acuerdo a las corridas experimentales llevadas a cabo, su solubilidad en KOH es muy alta casi del 100%.

La cocción del frijol soya además de eliminar factores anti nutricionales que es el objetivo de este estudio también ayuda a mejorar la asimilación y el aprovechamiento de los nutrientes. Como por ejemplo con el tratamiento térmico se observa una mejoría en la

digestibilidad del almidón. Del mismo modo ocurre con la proteína que mejora hasta cierto punto antes de sufrir desnaturalización. (Klein *et al*, 2020)

#### 6.4. Análisis de inhibidor de tripsina.

Se realizó el análisis de inhibidor de tripsina al frijol soya crudo por duplicado a la muestra obtenida del pool de los 24 tracto mulas muestreadas para los análisis físicos. Se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 11.

**Tabla 11:** Resultados de inhibidor de tripsina para un frijol crudo.

	Inhibidor de tripsina		Unidades
	M1	M2	
<b>Frijol soya Crudo</b>	33,9	34,4	UIT/mg
<b>Promedio</b>	<b>34,14 +/- 0,36</b>		

Cuando el frijol soya se encuentra en su estado natural (crudo), los niveles del inhibidor pueden variar en un amplio rango dependiendo del estado de cosecha y de maduración del grano. Tanto así que desde el punto de vista bioquímico estos inhibidores bloquean fuertemente la tripsina al punto de ser tóxicos al ingerirse por mono gástricos. Su consumo puede generar indeseables efectos fisiológicos como la distensión abdominal, problemas a nivel pancreático y una disminución en el aprovechamiento de los nutrientes (Farfán *et al*, 2014).

#### 6.5. Desarrollo del diseño experimental

El diseño experimental planteado buscó evaluar 2 temperaturas registradas por el equipo de cocción y 2 tiempos de residencia por cámara. Estos equipos tienen un control de presión que indirectamente regula la temperatura de la cámara la cual debe ser lo más estable posible para garantizar un proceso homogéneo. De acuerdo a las lecturas registradas por el equipo las temperaturas posibles de obtener de manera controlada fueron 55°C y 85°C.

El tiempo de residencia es un variable de proceso que puede ser modificada libremente por el operador. La condición actual del proceso manejaba tiempos de 1240 segundos por lo que se evaluó este tiempo como el nivel más bajo teniendo en cuenta que previamente ya había sido analizado con resultados aceptables. Se manejó un tiempo superiores de 1300 segundos como nivel superior.

Los análisis fueron realizados por triplicado y se muestran en la tabla 12.

**Tabla 12:** Resultados de inhibidores de tripsina en UIT/mg en los diferentes tratamientos evaluados.

	#	Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desv Std.
			1	2	3		
55-1240	1	T1t1	3,51	3,52	3,49	3,51	0,015
55-1300	2	T1t2	2,64	1,92	2,41	2,32	0,368
85-1240	3	T2t1	3,45	3,5	3,64	3,53	0,098
85-1300	4	T2t2	2,52	2,8	2,65	2,65	0,140

De acuerdo a los resultados de la tabla 12, se observa que hay buena repetibilidad de los diferentes tratamientos llevados a cabo, la desviación estándar es baja exceptuando el tratamiento #2 en donde la segunda repetición arrojó un valor ligeramente diferente a los otros dos, lo cual aumentó la desviación estándar para este tratamiento. Este hecho supone que se presentó una variación analítica que pudo ser generada por una desviación experimental normal de acuerdo a la metodología AACC método 17-10 empleado en la cuantificación del inhibidor, la incertidumbre analítica está determinada por las condiciones de cada laboratorio sin embargo esta puede presentar una variación entre +/- 1UIT/mg. La metodología fue estandarizada en el laboratorio y validada con un laboratorio internacionalmente avalada para la ejecución de este análisis y se determinó que la variación máxima aceptada es de +/- 0,5 UIT/mg antes de considerarse un error experimental que requiera una repetición de los análisis.

### 6.5.1. Análisis de varianza

Extrayendo los datos de la tabla 12, tenemos un total de 3 repeticiones, el número de tratamientos fueron 4 por lo que los grados de libertad para este análisis de varianza es de 3. Usando el software Statgraphics 18 se realizó el análisis de varianza.

Primero se plantearon las siguientes hipótesis para ser evaluadas e identificar si los efectos son o no significativos.

Las hipótesis nulas fueron las siguientes:

$H_0$ : Efecto de la temperatura = 0

$H_0$ : Efecto del tiempo = 0

$H_0$ : Efecto de la interacción = 0

Las respuestas o interpretación de estas hipótesis plantean que no hay efecto significativo de cada uno de los factores o de la interacción entre ellos, sobre la variable de respuesta, el inhibidor de tripsina.

Y las hipótesis alternas planteadas son las siguientes:

H<sub>1</sub>: Efecto de la temperatura ≠ 0

H<sub>1</sub>: Efecto del tiempo ≠ 0

H<sub>1</sub>: Efecto de la interacción ≠ 0

La interpretación de estas hipótesis plantea que si hay efecto significativo de cada uno de los factores o de la interacción entre ellos, sobre la variable de respuesta, el inhibidor de tripsina.

#### 6.5.1.1. Análisis de experimentos.

Usando el software Statgraphics 18, se determinó el promedio de toda la población de resultados para las variables de respuesta y se estimó el efecto de cada uno de los factores. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13:** Efectos estimados para la variable de respuesta Inhibidor de tripsina

Efecto	Estimado	Int. Confianza	V.I.F.
Promedio	3,005	+/- 0,1596	
Temperatura	0,177	+/- 0,319	1,0
Tiempo	-1,027	+/- 0,319	1,0
Interacción	0,153	+/- 0,319	1,0

Este análisis se realizó a partir de los tratamientos mencionados en la tabla 12

Observamos un promedio estimado de inhibidor de tripsina de 3,005 con un intervalo de confianza del 95% de +/- 0,1596.

En la tabla se muestra el valor de inflación de la varianza, donde se analiza que para diseños experimentales ortogonalmente perfectos este valor debe ser igual a 1, el cual es el caso de este experimento.



**Tabla 14:** Análisis de Varianza para Inhibidor de tripsina – Proceso de cocción del frijol soya

<b>Efectos Principales</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:TEMPERATURA	0,0936333	1	0,0936333	2,23	0,1738
<b>B:TIEMPO</b>	<b>3,16213</b>	<b>1</b>	<b>3,16213</b>	<b>75,29</b>	<b>0,0000</b>
AB	0,0705333	1	0,0705333	1,68	0,2311
RESIDUOS	0,336	8	0,042		
TOTAL (CORREGIDO)	3,6623	11			

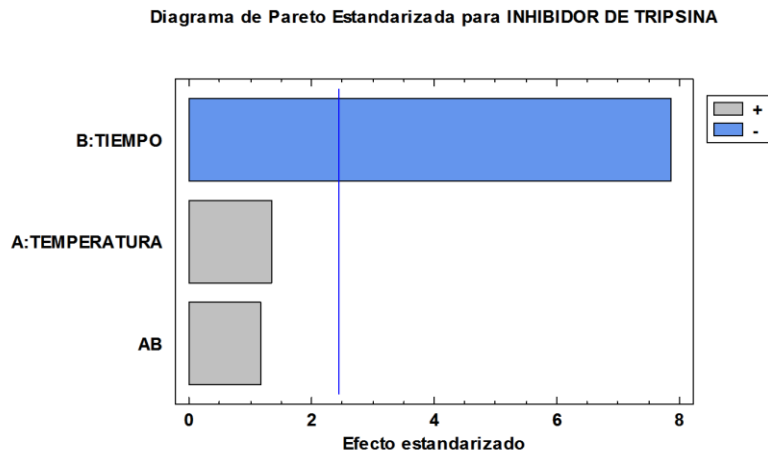
En la tabla 14 se analiza la variación que presenta el inhibidor de tripsina ocasionado por el efecto de cada una de las condiciones de entrada. De igual manera se analiza la significancia estadística de cada una de las condiciones comparando su cuadrado medio contra un estimado del error.

Estadísticamente los datos obtenidos del ANOVA, el valor con mayor importancia para este análisis es el Valor-P. Este valor representa la probabilidad de obtener una diferencia más grande o mayor que la observada. Por lo que se establece que si este valor de probabilidad es menor que el porcentaje que hemos establecido que para este caso fue del 95% (es decir un  $p < 0,05$ ) entonces decimos que la probabilidad de que este resultado haya sido obtenido al azar es nulo por lo que debemos aceptar que tenemos un efecto significativo producido por esta variable y por consiguiente rechazamos la hipótesis nula.

Analizando uno a uno los valores obtenidos en la tabla 14 podemos afirmar lo siguiente.

- El análisis de varianza arroja que los cambios en la temperatura un  $p > 0,05$  por lo que aceptamos la hipótesis nula para esta variable y encontramos que no tiene un efecto significativo sobre la variable de salida, es decir los cambios en la temperatura no tienen un efecto significativo sobre el inhibidor de tripsina.
- Por el contrario para el tiempo si se encontró que  $p < 0,05$ , es decir aceptamos la hipótesis alterna y decimos que los cambios en esta variable son los que mayormente afectan el inhibidor de tripsina (ver figura 9)
- Finalmente la interacción entre las dos variables tiene un  $p > 0,05$  por lo que decimos que no tiene un efecto significativo y aceptamos la hipótesis nula. Es decir la interacción entre estas dos variables no afecta significativamente la respuesta del inhibidor de tripsina.

**Figura 9:** diagrama de Pareto de la significancia de los factores.



*Fuente: Statgraphics 18.*

La figura 9 muestra el efecto significativo que tuvo el factor tiempo en esta investigación. Se hace evidente que la concentración del inhibidor de tripsina únicamente se vio influenciado por el tiempo de tratamiento que tuvo el frijol soya.

Analizando los motivos por los que un factor pudo o no tener efecto significativo sobre la variable de respuesta debemos analizarlas más al detalle para tratar de inferir las posibles causas.

Como se ha mencionado anteriormente el inhibidor de tripsina es una proteína termolábil, es decir sufren alteraciones fácilmente en su estructura y en sus propiedades por efecto del calor. Estudios como el de Kaankuka (1996) evaluó el efecto del tiempo y la temperatura en un proceso de cocción de frijol. Este estudio mantuvo una misma temperatura de 100°C y varió el tiempo de residencia del grano en el proceso. Encontrando que el inhibidor de tripsina presentaba una disminución significativa cuando se variaban los tiempos incluso sin evaluar el efecto de diferentes niveles de temperatura.

Frank (1988) estudió el comportamiento del frijol soya y del inhibidor de tripsina realizando un tratamiento término en un reactor hidrotérmico usando una temperatura en primera cámara de 90°C con el objetivo de realizar la disminución del inhibidor de tripsina. Este estudio encontró un efecto significativo al trabajar con esta condición.

Abel (1984) realizó una evaluación de diferentes procesos térmicos para tratar el frijol soya y analizar el comportamiento de los factores antinutricionales y la digestibilidad de

los aminoácidos. El proceso de cocción se realizó usando un reactor hidrotermico con temperaturas controladas entre 90 y 95°C. De igual manera se evaluaron otros métodos como la extrusión y la torrefacción.

El investigador reportó que el método de cocción comparado con los otros dos es el que toma mayor tiempo en completar el proceso. Los tiempos pueden ir desde los 15 hasta los 30 minutos. Sin embargo al evaluar la concentración del inhibidor de tripsina, este fue el proceso que arrojó mejores resultados ya que logró una disminución significativamente mayor que los otros métodos.

Los estudios mencionados se asemejan entre sí en que todos utilizaron una temperatura de trabajo de 90°C mínimo y una variación en los tiempos de tratamiento. En los cuales hubo una disminución significativa en la concentración del inhibidor de tripsina que estaba principalmente asociada al factor tiempo entre los diferentes procesos. Es decir la temperatura la mantuvieron constante y se evaluaba el efecto del tiempo que duraba el frijol soya expuesto al calor.

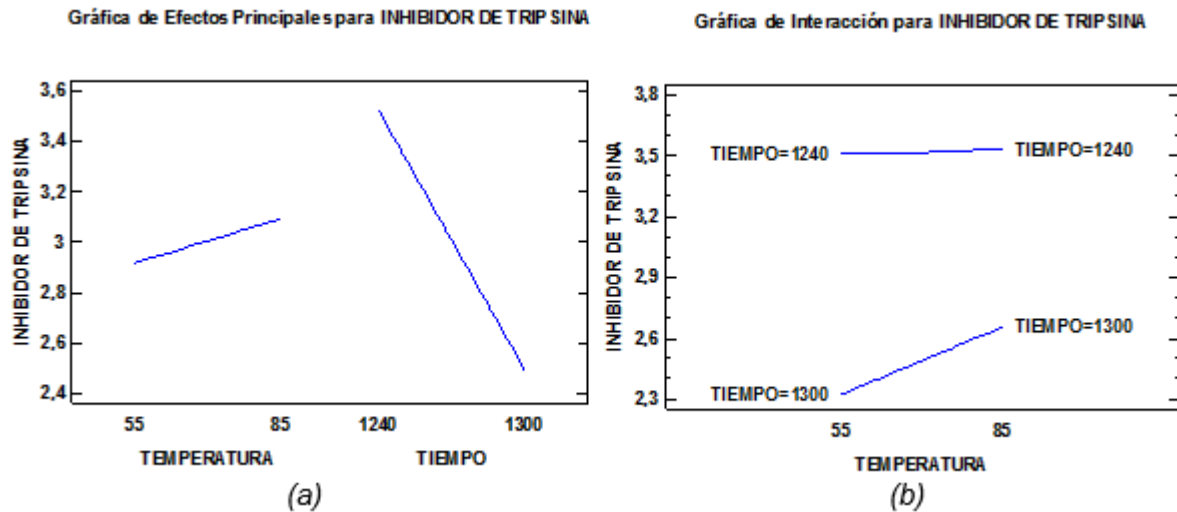
De igual manera es importante mencionar que la temperatura trabajada en dichas investigaciones fue de 90°C mientras que la temperatura de este estudio fue de 85°C de este estudio. Lo que permite inferir que se podrían evaluar temperaturas mayores y así poder concluir cual debe ser el valor mínimo valor para tener un efecto significativo sobre el inhibidor de tripsina.

De acuerdo al análisis de varianza se encontró que el tiempo de proceso independientemente del valor y estudiado en en los diferentes niveles y temperaturas tuvo un efecto significativo.

Ya que cuando se analizaron los tiempos de 1240 y 1300 segundos, se observó una disminución entre el 89% y el 92% comprado con el frijol soya crudo.

Herkelman (1993) estudio la respuesta del inhibidor de tripsina al procesar el frijol soya a una temperatura de 110°C, variando el tiempo de 20 a 40 min. Se observó una disminución del inhibidor de tripsina de 4,9 a 2,1 mg/g, es decir el 42% de inhibidor fue eliminado con esta variación del tiempo.

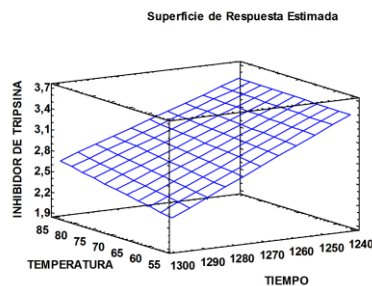
**Figura 10:** Efectos de los factores estudiados



Fuente: Statgraphics 18.

La figura 10-a muestra el efecto de los factores sobre la variable de respuesta allí se observa que cuando se aumenta la temperatura de 55 a 85°C la variable de respuesta no sufre una variación considerable, incluso se observa un aumento en el inhibidor de tripsina lo cual no es consecuente con la teoría y podría estar asociado a la misma variación analítica. Por el contrario al cambiar el tiempo de cocción el inhibidor de tripsina disminuye significativamente pasando desde 3,5 hasta un 2,5 UIT/mg. En la figura 10-b tenemos el efecto de la interacción de los factores de estudio donde podemos observar que para el tiempo de 1240 segundo la variación fue casi nula cuando se pasó de 55 a 85°C y una situación similar ocurre cuando se pasa de 55 a 85°C pero teniendo un tiempo de cocción mayor de 1300°C.

**Figura 11:** Grafico de superficie de los factores de estudio y la variable de respuesta

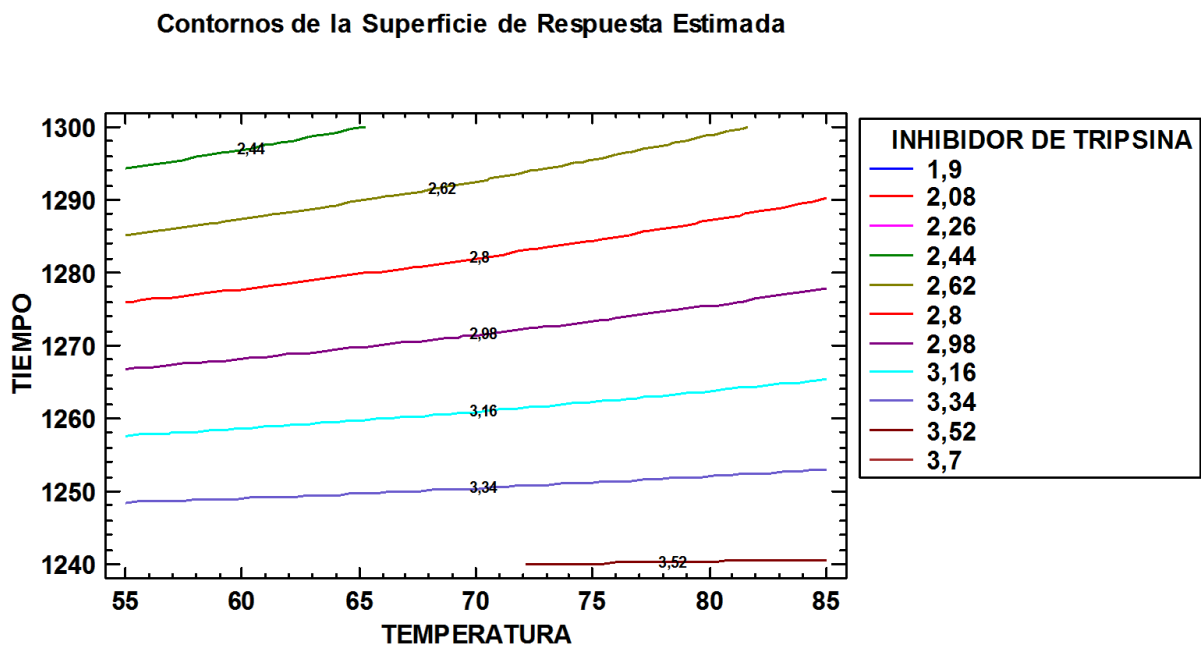


Fuente: Statgraphics 18.

En el gráfico 11 se observa la variación del inhibidor de tripsina a lo largo de los dos factores de estudio y sus diferentes niveles. Se realizó un gráfico de superficie de respuesta sobre la región experimental que modela el comportamiento del inhibidor de tripsina al tiempo que se desplaza por los diferentes tiempos y temperaturas.

De acuerdo a estos resultados el valor más alto del inhibidor de tripsina se presentó cuando el tiempo era de 1240 segundos, en este punto se evaluaron las dos temperaturas sin encontrar una diferencia significativa entre ellas. Por el contrario la concentración más baja de inhibidores se presentó cuando se trabajó con el mayor tiempo de proceso 1300 segundos.

**Figura 12:** Grafico de contornos de la temperatura y el tiempo y el inhibidor de tripsina



Fuente: Statgraphics 18.

### 6.5.2. Modelo matemático y coeficiente de determinación

Con ayuda del software Statgraphics 18 se determinó el modelo matemático que mejor relaciona los resultados experimentales obtenidos. Este modelo se muestra a continuación.

$$\text{INHIBIDOR DE TRIPSINA} = 39,4698 - 0,210481 \cdot T - 0,029037 \cdot t + 0,00017037 \cdot T \cdot t$$

T= temperatura; t = tiempo

Del modelo se analizó que cuando la temperatura y el tiempo son iguales a cero, es decir hablamos de un frijol soya que no ha tenido proceso de cocción, el valor del inhibidor de tripsina será de 39,47 UIT/mg. Regresando a la tabla 11 donde se analizó la concentración de inhibidor de tripsina en una muestra de frijol soya crudo tenemos que estos valores son de orden semejantes. Estos resultados podríamos resumirlos de la siguiente manera.

Si bien los valores mostrados en la tabla 15 no son iguales si se encuentran dentro del mismo orden y permiten obtener una estimación del nivel de inhibidor de tripsina en un frijol crudo.

**Tabla 15:** Comparación entre el inhibidor de tripsina experimental y el calculado

<b>Concentración de inhibidor de tripsina en frijol crudo</b>	
Experimental	Modelo matemático
34,14 UIT/mg	39,47 UIT/mg

Es importante mencionar que este modelo calculado no predice exactamente los niveles de inhibidor de tripsina. Ya que únicamente se evaluaron dos puntos en cada uno de los factores. El modelo permite calcular el nivel de inhibidor de tripsina cuando los tiempos y las temperaturas de cocción se encuentren en el rango de trabajo de esta investigación, es decir cuando estemos trabajando con temperaturas de 55 a 85 °C y tiempos de cocción de 1240 a 1300 segundos.

**Tabla 16:** Coeficiente de determinación.

R <sup>2</sup>	91,6405 %
R <sup>2</sup> (ajustada por g.l.)	84,6742%
Error estándar del est.	0,225887
Error absoluto medio	0,123472

También se halló el coeficiente de determinación normal y ajustado para este modelo buscando definir la calidad del mismo y encontrar cual es el porcentaje de variabilidad de los datos explicados. Se encontró un valor de 91,6% es decir este modelo es capaz de predecir o explicar un 91,6% de los datos calculados obtenidos, que para el objetivo del estudio es un valor aceptable.

Analizando la tabla 16 y examinando las causas que puedan tener mayor influencia sobre el coeficiente de determinación normal y el ajustado, encontramos que es probable que los factores estudiados tenga valores cercanos entre sí o que sean muy pocos niveles

analizados. Por tales motivos, buscando incrementar el  $R^2$  y robustecer el modelo matemático se sugiere que para próximas investigaciones se adicionen más niveles de temperatura y tiempo que se distancien más entre uno y el otro lo que brindaría un mayor alcance en las estimaciones.

### 6.6. Análisis de Tukey

Adicionalmente se realizó una prueba de Tukey para determinar cuál grupo era significativamente diferente de los demás.

Para este análisis se calculó la diferencia honestamente significativa con base en los resultados obtenidos del análisis de varianza. Los resultados son mostrados en la tabla 17.

**Tabla 17:** Resultados análisis de tukey

<b>HSD</b>	<b>1,42</b>
<b>Multiplicador</b>	4,26
<b>Mse</b>	0,33
<b>n</b>	3

Ahora procedemos a calcular la tabla comparativa de Tukey para realizar las respectivas comparaciones con la diferencia honestamente significativa. Los grupos se dividieron por los respectivos tratamientos y se procedió a calcular la diferencia entre las medias de cada una de las parejas

**Tabla 18:** Análisis de diferencias entre grupos

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>1</b>		1,18	-0,02	0,85
<b>2</b>			-1,21	-0,33
<b>3</b>				0,87
<b>4</b>				

De acuerdo a como están organizados los datos en la tabla 12 fueron analizados en esta nueva tabla y se calculó la diferencia entre un grupo y otro. Al comparar cada uno de los valores obtenidos con el valor calculado de la diferencia honestamente significativa (1,42) podemos notar que ninguno de los valores de tabla 18 es mayor que el valor del HSD. Por lo tanto podemos inferir de este resultado que no existe una diferencia significativa entre los resultados de cada uno de los grupos.

## 6.7. Estudio de correlación entre el inhibidor de tripsina y la proteína soluble en KOH.

Como ya se mencionó anteriormente la proteína soluble en KOH es una de las variables de control más habituales de encontrar en las plantas de procesamiento térmico de frijol soya. Sin embargo debemos tener en cuenta las siguientes relaciones.

De acuerdo al profesor Dale de la universidad de Barcelona en harina de soya se deben tener valores de proteína soluble en KOH entre 75 y 85% como garante de un buen procesamiento. Es decir por debajo de 75% ya estaríamos teniendo una soya sobre procesada y por encima de 85% una soya sub procesada (cruda). Es importante aclarar que estos valores son asociados a torta de soya. En frijol soya son pocos las investigaciones con evidencias in vivo que avalen estos valores de solubilidad el frijol soya y que los asocien a sobre o sub procesamientos. Sabemos que un frijol mal procesado probablemente tenga concentraciones de inhibidor de tripsina altas y previamente se han mencionado los efectos nocivos de este factor anti nutricional (Dale *et al* 1988).

Pero siguiendo esta lógica de investigación surge la siguiente pregunta: ¿Porque medir si la soya ha sufrido un sobre procesamiento o esta quemada?

Por lo cual es importante hablar en término de aminoácidos digestibles y como son asimilados y aprovechados en las dietas alimentarias. Un concepto importante de mencionar es la lisina reactiva, que hace referencia al porcentaje de lisina que queda biodisponible para su asimilación luego del proceso térmico esto se traduce en una buena o mala absorción de los nutrientes (Hoffman *et al* 2018).

**Tabla 19:** Relación entre inhibidor de tripsina, proteína soluble en KOH y lisina reactiva.

Variable de control	Sobre procesado (Quemado)	Optimo	Sub procesado (Crudo)
Proteína soluble en KOH 0,2%	<75%	75% - 85%	>85%
Inhibidor de tripsina	Bajo	En investigación	Alto
Lisina reactiva	Baja	Optima	Alta

De acuerdo a la tabla 17, el proceso térmico aplicado al frijol soya busca la disminución de la concentración del inhibidor de tripsina hasta su punto más bajo, sin llegar a afectar



la calidad de los aminoácidos y principalmente la lisina reactiva para que esta se encuentre disponible y sea asimilada en el organismo (Mouhgan et al 1996).

La presente investigación también tomo como parámetro de control del proceso de cocción del frijol soya la proteína soluble en KOH (como medida indirecta de la lisina reactiva) y compararla con el inhibidor de tripsina para determinar si existe algún tipo de correlación.

Los resultados de este experimento son mostrados a continuación.

**Tabla 20:** Comparativo entre inhibidor de tripsina y proteína soluble en KOH 0,2%

Corridas	UIT/mg	% PS KOH
(-1,-1)	3,51	73,99
(-1,-1)	3,52	74,8
(-1,-1)	3,49	74,3
(-1,+1)	2,64	64,7
(-1,+1)	1,92	65,9
(-1,+1)	2,41	65,45
(+1,-1)	3,45	76,83
(+1,-1)	3,5	75,39
(+1,-1)	3,64	76,28
(+1,+1)	2,52	73,48
(+1,+1)	2,8	72,61
(+1,+1)	2,65	73,8

De igual manera se realizó un análisis de regresión simple usando el software Statgraphics y los resultados se muestran a continuación:

### 6.7.1 Regresión simple

Se representó como variable independiente el inhibidor de tripsina expresado en UIT/mg y como variable dependiente el % de proteína soluble en KOH. En la tabla 19 se muestran los respectivos coeficientes, la pendiente y el intercepto con el error estimado en el cálculo de cada uno de ellos.

**Tabla 21:** Coeficientes del modelo lineal

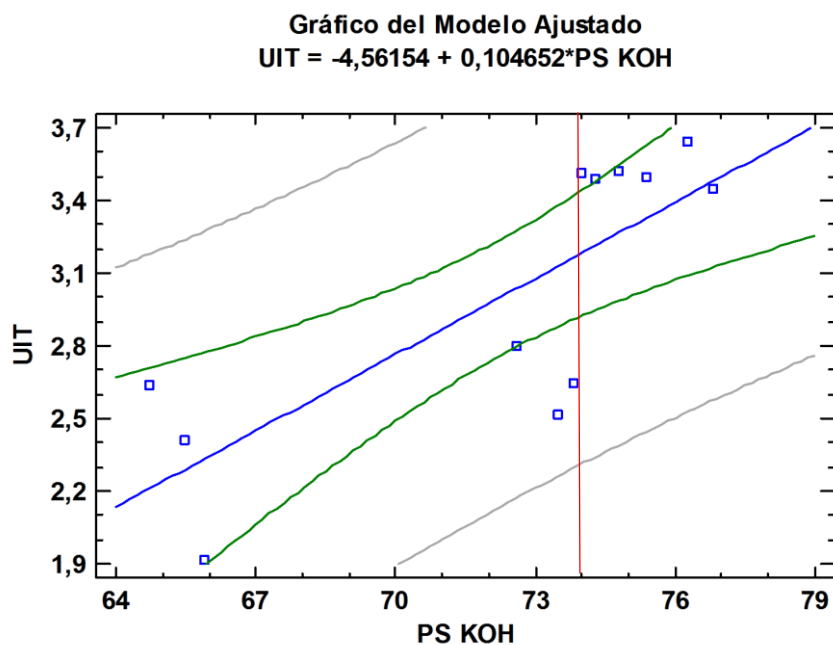
	Mínimos Cuadrados	Estándar
Parámetro	Estimado	Error
Intercepto	-4,56	1,87
Pendiente	0,10	0,0258

El modelo lineal se denota de la siguiente manera:

$$\text{UIT} = -4,56154 + 0,104652 \cdot \text{PS KOH}$$

En la figura 13 se grafica la relación entre la proteína soluble y el inhibidor de tripsina se observa que los puntos se encuentran dispersos a lo largo de todo el plano ubicándose en su mayoría distanciados de la recta que simula la regresión lineal.

**Figura 13:** Grafico del modelo ajustado



De igual forma se halló el coeficiente de determinación para el modelo los cuales son mostrados en la tabla 20

**Tabla 22:** Coeficiente de determinación del modelo lineal

$R^2$	62,18 %
$R^2$ (ajustada por g.l.)	58,42%
Error estándar del est.	0,37
Error absoluto medio	0,30

Este valor indica que el modelo encontrado es capaz de interpretar un 62.18% de la variabilidad del inhibidor de tripsina, lo cual es un valor bajo ya que para que el modelo sea confiable se esperaría al menos un 95%.

Esto nos lleva afirmar que el modelo no es confiable para determinar el inhibidor de tripsina a partir de la proteína soluble por lo que se determina que no se encontró una correlación directa entre las dos variables.

En el anexo B se muestra los demás modelos que fueron estudiados buscando obtener una mejor correlación entre los datos. Sin embargo ninguno de los modelos calculados tuvo un coeficiente de determinación alto que permite tener confianza sobre la correlación.

Aunque matemáticamente no se encontró un modelo que permitiera predecir el valor de la proteína soluble a partir de los datos de los inhibidores de tripsina, si se encontró de acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 18 y los datos de la figura 13, que cuando el inhibidor de tripsina se encuentra por encima de 3 UIT/mg fácilmente podemos tener proteína solubles por encima de 74% y cuando el inhibidor de tripsina es mejor de 3 UIT/mg puede bajar incluso hasta 66% de acuerdo a los resultados experimentas obtenidos. Por lo tanto de acuerdo a estas inferencias si el objetivo del estudio es tener el inhibidor de tripsina lo más bajo posible se debe buscar obtener proteínas solubles por debajo de 74% o dicho de otra forma si los inhibidores se encuentra por debajo de 3UIT/mg es de esperarse obtener proteínas solubles bajas ( menores a 74% hasta 66%)

## CONCLUSIONES

- ❖ De acuerdo a las condiciones de los equipos a las variables del proceso y a los resultados obtenidos se determinó que cuando se aumenta el tiempo a los 1300 segundos se logra la mayor disminución del inhibidor de tripsina independientemente de la temperatura que se esté manejando. Es decir este es el parámetro que más favorece la calidad del frijol soya.
- ❖ De acuerdo a los resultados obtenidos durante la caracterización física de la materia prima, se encontró que esta puede estar variando en un amplio rango ya se de impurezas o de granos partidos que pueden influir en el proceso de cocción. Ya que no es lo mismo tener en el cocedor granos enteros que granos partidos y esto también determina los tiempos y temperaturas del proceso y de igual manera con las impurezas. Esta condición de variabilidad hace crítico la inspección previa para determina el punto de partida en las condiciones de proceso.
- ❖ De acuerdo al análisis de varianza realizado se encontró que la temperatura no tuvo un efecto significativo sobre la concentración del inhibidor de tripsina, únicamente el tiempo de proceso afecto la variable de respuesta produciendo cambios significativos. De igual manera la interacción entre los dos factores tampoco tuvo gran relevancia en la concentración del inhibidor de tripsina.
- ❖ El modelo matemático encontrado mostro un valor de coeficiente de determinación aceptable ya que aproximadamente el 91% de los valores son interpretados por este modelo. Sin embargo es importante aclarar que el modelo se ajuste en los valores comprendidos dentro del rango de trabajo, es decir en temperaturas de 55 a 86°C y tiempos de proceso de 1240 a 1300 segundos.
- ❖ No se encontró una correlación entre los valores de inhibidor de tripsina y la proteína soluble en KOH, si bien se logró calcular un modelo matemático lineal, el coeficiente de determinación fue del 62%, lo que hace que el modelo no sea preciso para calcular la variable de respuesta.
- ❖ Aunque no se hubiese encontrado un modelo matemático que permitiera predecir el valor del inhibidor de tripsina a partir de la proteína soluble o en el caso contrario. Si se observó que cuando el valor de proteína soluble es menor de 74% los inhibidores de tripsina son inferiores a 3UIT/mg.

## RECOMENDACIONES

- En el presente estudio se realizaron los análisis preliminares de la materia prima y se pudo evidenciar la importancia de conocer sus características tanto físicas como químicas y aprovechar esta información para determinar las mejores condiciones de proceso y definir lo más acertadamente estos parámetros. Adicionalmente podría brindar una idea anticipada de lo que se puede esperar del producto final, ya que altos contenidos de impurezas que no sean retirados previos al proceso de cocción, inevitablemente causaran un deterioro de la calidad y una disminución en los resultados bromatológicos y a su vez posibles falsos positivos o falsos negativos para el análisis del inhibidor de tripsina.
- De acuerdo a diferentes estudios reportados en la literatura las temperaturas de proceso habitualmente superan los 90°C por lo que se sugiere ampliar el estudio y aumentar los niveles del factor temperatura para observar si luego de alcanzada esta temperatura si se observa un efecto significativo sobre la concentración del inhibidor de tripsina.

## Bibliografía

Abel,HJ., Becker,K., Meske, CHR., (1984) Possibilities of using heat-treated full fat soybeans in carp feeding. *Aquaculture*,42,97-108.

Albarracin, B. (2006). La soya como fuente de proteína en la alimentación animal. 45-61.

Araba, M. and N. Dale, 1990. Evaluation of protein Solubility as an Indicator of over processing Soybean Meal. *Poultry Science*. 69: 76-83.

Asbridge, D. (1994). Soy beans vs. Other vegetable oils as a source of edible oil products. 15-26.

Bayran, M., Kaya, A., & Durdu, M. (2004). Changes in properties of soaking water during production of soy-bulgur. *Journal of food engineering*, 61, 221-230.

Birk, Y. (1985). The Bowman-Birk inhibitor. *Int.J. Peptide Protein*, 25, 113-131.

Buitrago, J. (1992). Soya integral en alimentación de aves. 26-31.

Campabadal, C., Vaquero, M., & Ledezma, R. (1985). Utilizacion de la soya integral en la alimentación de pollos de engorde. *Agronomia Costarricense*, 29-35.

Dale, N. (1988). Solubilidad de la proteína como indicador del procesamiento de la harina de soya. *Avicultura profesional*,5, 329-332.

Farfan, C., Basilio, V. ( 2014). Desactivation full fat soybeans and its use in food for swine. Review. *Mundo Pecuario*,3, 99-110.

Fenalce. (2017). *Situacion del sector soya*. Obtenido de [http://fenalce.org/nueva/plantillas/arch\\_web/Situacion del Sector II Trimestre 2017 - Soya.pdf](http://fenalce.org/nueva/plantillas/arch_web/Situacion_del_Sector_II_Trimestre_2017_-_Soya.pdf)

Fenavi Colombia. (2018). *La producción avícola de Colombia subió un 6,7%* . Obtenido de <https://fenavi.org/estadisticas/>

Frank, G. (1988). How to improve the quality of fullfat soya beans and other legumes by hydrothermal treatment. *Feed Magazine* 11: 42-46.

Friedman, M., & Brandon, D. (2002). Immunoassays of Soy Proteins. *Journal Agriculture and food chemistry*, 50, 6635–6642.

Garcia, E. (2006). Aspectos socioeconómicos y usos potenciales de la soya. 32-45.

Gatel, F. (1994). Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. *Animal Feed Science and Technology*, 45, 317-348.

Herkelman, K., Cromwell, G.L, Cantor, A.H. (1993). Effects of heat treatment on the nutritional value of conventional and low trypsin inhibitor soybeans for chicks. *Poultry science*, 72, 1359-1369.

Hoffmann, D., Thurner, S., Ankerst, D., Damme, K., & Windisch, W. (2019). Chickens' growth performance and pancreas development exposed to soy cake varying in trypsin inhibitor activity, heat-degraded lysine concentration, and protein solubility in potassium hydroxide. *Poultry Science*, 1-14.

Hurtado, V., Corredor, L., & Garzon, V. (2003). Grano de soya integral tostado en la alimentación de codornices. *Revista de la escuela de medicina veterinaria y zootenica*. 15-35.

Kaur, S., Sharma, S., Dar, B., & Singh, B. (2012). Optimization of process for reduction of antinutritional factors in edible cereal brans. *food science and technology international*, 446-454.

Liener, I. (1994). Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in food science nutrition*, 34, 31-67.

Kaankuka, F., Balogun, T., Tegbe, T., (1996) Effects of duration of cooking of full-fat soya beans on proximate analysis, levels of antinutritional factors, and digestibility by weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 62: 229-237.

Klein, A. (2020) Tratamientos térmicos sobre los nutrientes, la microbiología y la calidad física del alimento. *Revista Avinews – avicultura*.

- Moughan, P., Rutherford, S. (1996). A new method for determining digestible reactive lysine in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2202-2209
- Olarte, J. (2017). Analisis sectorial: Frijol soya. En J. Olarte, *Analisis sectorial: Frijol soya* (pág. 18). Bogota: Bolsa mercantil de Colombia.
- Peisker, M. (2001). Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. *Feed manufacturing in the Mediterranean region*, 54, 103-107.
- Pelaez, J., Restrepo, G., Villa, A., Londoño, G., & Sierra, J. (2010). Evaluation of productive and economic parameters, using different levels of full fat soy in broilers food. *Facultad medicina veterinaria y zootecnia universidad Ces*. 1-12
- Perkins, E. (1995). Composition of soybeans and soybean products. *Food Science*, 75-82.
- Rackis, J., Anderson, L., Sasame, A., Smith, K., & Vanetten, C. (1961). Soy bean amino acids in soybean hulls and oil meal fractions. 22-31.
- Rohe, I., Gobel, T., Goodarzi, F., & Zentek, J. (2017). Effect of feeding soybean meal and differently processed peas on the gut mucosal immune system of broilers. *Poultry science*, 96, 2064-2073.
- Runggruangsak, K. (2012). Trypsin and its Implementations for Growth, Maturation, and Dietary Quality Assessment.
- Sarwar, G., & Kevin, A. (2005). Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *Journal of AOAC International*, 88, 967-987.
- Solton, S., & Dulcey, S. (2014). *Crecimiento de la soya: impacto y soluciones*.
- Vagadia, B., Kranti, S., & Raghavan, V. (2017). Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor: A review. *Trends in food science & technology*, 64, 115-125.
- Whitaker, J. (2003). Proteolytic enzymes. *Agriculture food chem*, 382-385



Wilson, R., & Poe, W. (1981). Effects of residual antinutritional factors in processed soybean meal on fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 70-81.

Wilson, R., & Poe, W. (1985). effects of feeding soybean meal with varying tripsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 46, 19-25.

## ANEXO

**ANEXO A:** *Tabla de análisis físicos de la materia prima recibida para el proceso de cocción.*

FECHA DEL MUESTREO	# VEHICULO	% GRANO HONGO	% GRANO VERDE	% GRANO PARTIDO	%HUMEDAD	% IMPUREZAS	Tº PRODUCTO	DENSIDAD
31/08/19	1	0,6	0,8	9,2	13,03	0,9	25,93	731
31/08/19	2	0,8	0,9	9,4	12,12	0,8	32,49	736
31/08/19	3	0,6	1,4	7,2	12,44	0,9	32,23	735
02/09/19	4	1,1	1,3	17,6	12,4	1,3	31,73	750
02/09/19	5	1,3	1,6	18,6	12,48	1,1	29,63	732
04/09/19	6	0,7	1,1	10	12,54	0,6	32,11	733
04/09/19	7	0,6	1	11	12,28	0,4	31,23	734
04/09/19	8	0,7	1,3	7,6	12,48	0,8	33,81	762
05/09/19	9	0,5	0,9	12	12,33	0,9	31,11	734
05/09/19	10	1	1,3	13,2	13	0,8	27,95	726
05/09/19	11	0,9	1,4	8,4	12,7	0,4	25,15	728
06/09/19	12	0,7	1,2	10,6	12,74	1	26,59	728
06/09/19	13	0,7	1,3	9	12,41	0,5	32,01	747
07/09/19	14	0,7	1,3	8,5	12,78	1	24,01	735
07/09/19	15	0,8	1	9,6	12,83	0,7	24,17	730
07/09/19	16	1	1,6	7,2	12,76	0,6	30,89	732
07/09/19	17	0,4	0,6	11	12,65	0,9	31,25	732
09/09/19	18	1,4	1,2	13,6	11,79	1,8	25,62	747
09/09/19	19	1,8	1,9	12,7	13,18	2	25,73	740
09/09/19	20	1,3	1,5	12	11,92	1	25,6	743
09/09/19	21	1,3	1,5	6,2	11,9	1,1	24,77	744
11/09/19	22	1,3	2,2	22,6	11,8	2	34,47	726
11/09/19	23	1,2	1,7	11,6	11,64	0,8	34,69	730
13/09/19	24	1,1	1,6	12,48	11,3	1,92	33,83	725

<b>PROMEDIO</b>	0,94	1,32	11,30	12,40	1,01	29,46	735,83
<b>MINIMO</b>	0,40	0,60	6,20	11,30	0,40	24,01	725,00
<b>MAXIMO</b>	1,80	2,20	22,60	13,18	2,00	34,69	762,00
<b>DESV. ESTANDAR</b>	0,35	0,36	3,86	0,48	0,47	3,62	8,98

**ANEXO B:** Tabla de análisis de los diferentes modelos probados para determinar el mejor coeficiente de determinación

Modelo	Correlación	R-Cuadrada
Lineal	0,7887	62,20%
Cuadrado Doble	0,7881	62,11%
Raíz Cuadrada Doble	0,7872	61,97%
Logarítmico-Y Raíz Cuadrada-X	0,7865	61,87%
Raíz Cuadrada de X	0,7861	61,80%
Inversa-Y Cuadrado-X	-0,7850	61,63%
Raíz Cuadrada-Y Log-X	0,7847	61,57%
Multiplicativa	0,7841	61,49%
Logaritmo de X	0,7835	61,39%
Cuadrado de Y	0,7828	61,28%
Inversa de Y	-0,7810	61,00%
Cuadrado-Y Raíz Cuadrada-X	0,7801	60,85%
Raíz Cuadrada-Y Inversa de X	-0,7795	60,76%
Curva S	-0,7792	60,71%
Inversa-Y Raíz Cuadrada-X	-0,7789	60,67%
Inversa de X	-0,7782	60,55%
Cuadrado-Y Log-X	0,7773	60,42%
Inversa-Y Log-X	-0,7767	60,33%
Doble Inverso	0,7721	59,62%
Cuadrado-Y Inversa de X	-0,7717	59,55%
Logístico	<sin ajuste>	
Log probit	<sin ajuste>	