



RIDAA
Repositorio Institucional
Digital de Acceso Abierto de la
Universidad Nacional de Quilmes



Universidad
Nacional
de Quilmes

Maciel, Gisele

Expeller de soja : acondicionamiento de materia prima, eficiencia de extracción, composición, calidad y almacenabilidad del producto extrusado



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 2.5
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/>

Documento descargado de RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes de la Universidad Nacional de Quilmes

Cita recomendada:

Maciel, G. (2020). *Expeller de soja: acondicionamiento de materia prima, eficiencia de extracción, composición, calidad y almacenabilidad del producto extrusado. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. Disponible en RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes <http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/2175>*

Puede encontrar éste y otros documentos en: <https://ridaa.unq.edu.ar>

Expeller de soja: acondicionamiento de materia prima, eficiencia de extracción, composición, calidad y almacenabilidad del producto extrusado

TESIS DOCTORAL

Gisele Maciel

giyimaciel@hotmail.com

Resumen

El expeller de soja es uno de los principales subproductos obtenidos de la extracción de aceite por extrusado-prensado (E-P) del poroto. Su calidad es muy variable y se carece de una norma que sirva de referencia para su comercialización. Se sabe que el proceso de E-P y la calidad de la materia prima son las principales fuentes de variación en la calidad del expeller. El expeller se utiliza como ingrediente en la formulación de raciones para animales y por lo tanto su composición puede afectar los rendimientos productivos (ej. ganancia de peso, producción de leche, etc.). Además, es conocido su creciente uso en la industria de alimentos para consumo humano a través de la producción de proteínas texturizadas y micronizadas. Por estos motivos es indispensable comprender el efecto de los procesos previos de acondicionamiento sobre la eficiencia de extracción de aceite y las propiedades funcionales de las proteínas, como así también conocer las condiciones de almacenamiento seguro del subproducto con el fin de conservar su calidad.

En el capítulo I se caracterizó la composición y calidad del poroto de soja y del expeller producido en las principales zonas productoras de soja en Argentina.

Para ello se recolectaron pares de muestras de poroto y expeller de soja en once plantas de E-P y se analizaron en laboratorio. Los resultados permitieron caracterizar física, química y microbiológicamente el expeller de soja, destacándose que se encontró una importante variabilidad tanto en la materia prima como en el producto extrusado. Se establecieron relaciones entre parámetros de composición del poroto de soja y parámetros de calidad del expeller. Una de las principales conclusiones prácticas de este capítulo es que la eficiencia de extracción de aceite, y por lo tanto la composición del expeller de soja, se vieron claramente afectadas particularmente por el contenido de humedad del poroto de soja.

En el capítulo II se estudió el efecto de la humedad del grano acondicionado en la eficiencia de extracción de aceite por E-P. Para ello se realizó un ensayo a escala real en una planta de E-P. Se utilizaron lotes diferentes de poroto de soja a los que se les realizó un tratamiento de secado con aire a 115 °C hasta alcanzar diferentes humedades (9, 11 y 13% b.h.). Posteriormente se realizó el tratamiento de E-P con la finalidad de evaluar la humedad que permite alcanzar los mayores niveles de eficiencia de extracción de aceite. Otros lotes de soja fueron secados a temperaturas del aire de 80 y 115 °C hasta alcanzar una humedad de 9% (b.h.). En todos los tratamientos se midió la temperatura alcanzada por el grano de soja y la variabilidad en la humedad de granos individuales. La composición del poroto obtenido y del expeller resultante y la eficiencia de extracción de aceite por E-P fueron evaluadas. Se pudo confirmar que la eficiencia de extracción de aceite se favorece a medida que disminuye la humedad del poroto de soja (de 13 a 9% b.h.). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la eficiencia de extracción de aceite cuando se evaluó el efecto de la temperatura del aire de secado.

En el capítulo III se abordó la temática del almacenamiento del expeller de soja.

En primer lugar se determinaron las isotermas de sorción de agua del expeller de soja. Para esto, se evaluó el efecto del contenido de aceite residual en las curvas de humedad de equilibrio, se ajustó el modelo de Halsey Modificado utilizado para oleaginosas y se propuso un nuevo modelo (Halsey Mejorado), que incorpora al modelo base el contenido de aceite con su correspondiente parámetro. Este modelo tiene la versatilidad de predecir el contenido de humedad de equilibrio del expeller (y la humedad de almacenamiento segura) en función de contenido de aceite residual, aspecto sumamente importante dado la gran variabilidad observada en este parámetro composicional.

Seguidamente se evaluó la almacenabilidad del producto a través de la determinación de su tasa de respiración para diferentes condiciones de temperatura y humedad. En función de los resultados se pudieron establecer las condiciones de almacenamiento seguro del expeller y predecir las pérdidas de materia seca en el tiempo. Por otra parte se evaluó el efecto del almacenamiento hermético y convencional a diferentes condiciones de humedad (6, 9 y 12% b.h.) con y sin agregado de gomas. El ensayo se realizó en bolsas plásticas confeccionadas con silo bolsa con una capacidad de 2,5 kilos de expeller. En todos los casos se realizaron muestreos a los tiempos t_0 , t_1 , t_2 , t_3 y t_4 , correspondientes a la muestra control y luego de 28, 56, 112 y 189 días de almacenamiento, luego de los cuales se evaluaron diversos parámetros de calidad. Los resultados indicaron que a 6 y 9% (b.h.) de humedad el expeller se pudo almacenar por 189 días sin cambio en ninguno de los parámetros de calidad evaluados. Mientras que el almacenamiento a 12% (b.h.) de humedad resultó en un incremento de la acidez y en altos recuentos de unidades formadoras de colonias de hongos xerófilos, que se vio reflejado en altos niveles de dióxido de carbono medidos. El sistema de almacenamiento hermético permitió retardar el desarrollo de hongos y el deterioro del aceite

residual (acidez) a la humedad de almacenamiento más alta (12% b.h.). El agregado de gomas "*per se*" no tuvo consecuencias sobre los indicadores de calidad del expeller.

En el capítulo IV se realizó una caracterización de los cambios estructurales y el estado de desnaturalización de las proteínas de las muestras de poroto y expeller de soja provenientes de las plantas de E-P evaluadas en el capítulo I.

Esta caracterización se realizó mediante calorimetría diferencial de barrido modulada y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. Por otro lado, se abordó el acondicionamiento de la materia prima y su efecto en aspectos de calidad funcional de las proteínas presentes en el expeller de soja.

Para ello se realizó un experimento a escala de laboratorio donde un lote de poroto de soja se sometió a tratamientos de secado con una temperatura del aire de secado de 25°C (control), 40, 55, 70 y 90 °C hasta alcanzar una humedad final de 10,5% (b.h.). En la muestra inicial y en las obtenidas de todos los tratamientos de secado se analizó composición y el índice de dispersabilidad de la proteína (PDI). Posteriormente se realizó un experimento a escala real en una planta de E-P donde se realizaron tratamientos con una temperatura del aire de secado de 80 y 115 °C a diferentes lotes de poroto de soja y se evaluó el efecto del secado sobre la composición y funcionalidad de la proteína de soja. Los resultados del ensayo de laboratorio indicaron que la solubilidad/dispersabilidad y por lo tanto la funcionalidad de las proteínas se vio afectada a partir del tratamiento térmico realizado a 70 °C, siendo el de 90 °C el que mayor efecto presentó. Los tratamientos de secado realizados a escala real no presentaron un importante efecto en el PDI del poroto, mientras que el posterior proceso de E-P presentó un efecto significativo en dicho parámetro. Esta reducción en la funcionalidad proteica fue mayor en las muestras tratadas a 115 °C que podría indicar un posible efecto "sensibilizador" sobre la proteína de soja.

Palabras clave: Eficiencia de extracción de aceite por extrusado-prensado; Secado de poroto de soja; Almacenamiento de expeller de soja; Cambios en estructura y funcionalidad proteica.



**Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito para optar al Título
de**

DOCTORA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

***Expeller de soja: acondicionamiento de materia
prima, eficiencia de extracción, composición,
calidad y almacenabilidad del producto
extrusado***

Lic. Gisele, Maciel

Director: Ricardo E., Bartosik

Co-Director: Jorge R., Wagner

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Bernal, Buenos Aires, Argentina

Febrero 2020

AGRADECIMIENTOS

Con esta Tesis termina una etapa muy importante en mi vida sin duda alguna en la que he pasado por numerosos momentos lindos y feos que me han marcado para toda mi vida. En cada paso que di a lo largo de estos años tuve el apoyo y el acompañamiento de muchísimas personas a las que les quiero agradecer.

Esta Tesis Doctoral no hubiera sido posible sin la beca otorgada para la realización del Doctorado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y al financiamiento de las actividades que he realizado por diferentes proyectos de investigación y de asistencia técnica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

A las plantas de extrusado-prensado que permitieron realizar los muestreos y a los colegas de INTA o personal de las plantas que me ayudaron a realizarlos (Leandro Cambareri, Cecilia Accoroni, Enrique Behr, Jose Ignacio Massigoge, Alejandro Guariste, Lisandro Errasquin, Gonzalo Ferrari, Guillermo Tomossi, María Espelet). Y particularmente a la planta que nos permitió realizar los ensayos de secado y nos facilitó el expeller para llevar a cabo el ensayo de almacenamiento (María, Pablo y José, entre otros).

A todos los Laboratorios de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce por permitirme utilizar equipamiento o llevar a cabo diferentes análisis necesarios para realizar este trabajo (Poscosecha de Granos; Poscosecha de Frutas y Hortalizas; Calidad de Carnes; Forrajes; Lechería; Microbiología de Suelos y Alimentos; Calidad de Granos y Aceites; Germoplasma) y a todas las personas involucradas en cada uno de ellos (becarios, docentes, ayudantes y responsables de los laboratorios).

A los Laboratorios de Investigación en Funcionalidad y Tecnología de Alimentos (LIFTA) y de Micología de Alimentos (LMA), de la Universidad Nacional de Quilmes (UNQ) por brindarme todo el equipamiento y las instalaciones para llevar a cabo análisis y por la calidad de personas que lo integran que me hicieron sentir parte desde el primer momento (los que forman parte, los que ya no, los que formaron parte de manera transitoria como yo, y a los responsables de hacer que el grupo sea tan agradable).

A Ricardo, que no sólo es un gran Director, sino que me ha demostrado ser una gran persona y un gran amigo. Se puso esta Tesis al hombro junto conmigo y me ayudó a llegar a la meta. Gracias por tantas correcciones/sugerencias (de tesis y de la vida misma) que hicieron que cada día aprenda algo nuevo o simplemente lo vea desde un punto de vista

diferente. Y lo más importante, gracias por confiar en mí y darme ánimo cuando lo he necesitado.

A Jorge, por estar siempre atento a la distancia y estar siempre a disposición cuando lo necesitaba. Gracias por hacer el esfuerzo junto conmigo para poder finalizar esta gran etapa en mi vida y principalmente por aceptar este desafío incluso sin conocerme.

A quienes me brindaron diferente tipo de ayuda para poder finalizar esta Tesis Doctoral (Nestor Juan, Leo Camba, Diego de la Torre, Leo Cardoso, Gaby Cendoya, Silvina San Martino, Claudia Castellari, Martin Mansilla, Yasmín Carrión Sad).

A mi gran equipo de trabajo, el de todos los días, con el que he compartido muchísimos momentos, buenos y malos, y que siempre estuvieron al pie del cañón para brindarme su ayuda. Gracias Ricardo, Camba, Diego, Leo, Caro, Berna, Estefa y Hernán.

A quienes compartieron cada día durante todos estos años, recorriendo cada uno de los 73,5 km de ida y de vuelta que separan Mar del Plata del INTA.

Y por último y no por eso menos importante quiero agradecerles a mi familia y amigos que me hicieron el aguante y entendieron cada una de las etapas por las que he pasado en este proceso de formación.

A mi mamá y a mi papá por tener su apoyo incondicional durante toda mi vida, a mis hermanos Tincho y Agus, a mis abuelos Zule, Quique y Alicia, a mis tíos, primos y sobrinos que me demuestran lo hermosa que es nuestra familia.

A mis amigos de la escuela, de la facu, de básquet, de danza, de la vida misma, gracias por entender y acompañarme siempre.

A Mau y Valen que son mi familia. Ellos son mi día a día, son mi pilar más importante. Gracias por aguantarme tantas horas aislada en la compu y estar atentos a lo que necesitara. Gracias Mau por acompañarme en mis proyectos, en mis decisiones y por ser mi compañero incondicional de vida. Gracias por todo amor.

A todos los que están y a los que ya no, que de una u otra manera supieron enseñarme a ser cada día mejor, que todo lo que me propusiera lo podía lograr y que no debemos perder el foco en los malos momentos.

Simplemente gracias a todos!

COMITÉ CONSEJERO

.....
Director: PhD. Ricardo E. Bartosik

.....
Co-Director: Dr. Jorge R. Wagner

COMITÉ EVALUADOR

.....
Evaluador:

.....
Evaluador:

.....
Evaluador:

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	2
COMITÉ CONSEJERO	4
COMITÉ EVALUADOR	4
ÍNDICE	5
ÍNDICE DE TABLAS	14
ÍNDICE DE FIGURAS	16
LISTADO DE ABREVIATURAS	19

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	26
1.1. Soja: origen y antecedentes históricos del cultivo.....	26
1.2. Distribución geográfica y producción	27
1.3. Características morfológicas del cultivo de soja	29
1.4. Estructura y composición química de la semilla de soja	30
1.5. Procesos de extracción de aceite en soja.....	32
1.5.1. Extracción con solventes	32
1.5.2. Extracción por extrusado-prensado	33
1.6. Subproductos obtenidos del proceso de extrusado-prensado de soja	36
1.7. Principales usos de la semilla de soja y sus subproductos.....	37
2. OBJETIVO GENERAL.....	39
3. HIPÓTESIS	39
4. CAPÍTULO I: Caracterización física, química y microbiológica del expeller de soja	40
4.1. INTRODUCCIÓN	41
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
4.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
4.3.1. Recolección y preparación de las muestras	45
4.3.2. Determinaciones en poroto de soja	47
4.3.2.1. Composición química	47
4.3.2.1.1. Contenido de humedad de grano individual	47
4.3.2.1.2. Composición del poroto de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano	48

4.3.2.1.2.1.	Contenido de humedad	48
4.3.2.1.2.2.	Contenido de aceite y proteínas	49
4.3.3.	Determinaciones en expeller de soja.....	49
4.3.3.1.	Caracterización física	49
4.3.3.1.1.	Color	49
4.3.3.1.2.	Ángulo de reposo	50
4.3.3.1.3.	Densidad volumétrica.....	51
4.3.3.2.	Caracterización química.....	52
4.3.3.2.1.	Composición química.....	52
4.3.3.2.1.1.	Composición del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano	52
4.3.3.2.1.2.	Eficiencia de extracción de aceite.....	53
4.3.3.2.2.	Parámetros de calidad	53
4.3.3.2.2.1.	Índice de acidez.....	53
4.3.3.2.2.1.1.	Curva de cinética de extracción de aceite residual en expeller de soja.....	53
4.3.3.2.2.1.2.	Extracción de aceite	54
4.3.3.2.2.1.3.	Determinación del índice de acidez del aceite.....	54
4.3.3.2.2.2.	Actividad ureásica.....	55
4.3.3.2.2.3.	Solubilidad proteica en hidróxido de potasio	56
4.3.3.3.	Caracterización microbiológica.....	57
4.3.3.3.1.	Determinación de unidades formadoras de colonias	57
4.3.3.3.2.	Identificación y frecuencias de aislamiento	57
4.3.3.3.3.	Micotoxinas	58
4.3.4.	Análisis estadístico	58
4.4.	RESULTADOS.....	60
4.4.1.	Determinaciones en poroto de soja	60
4.4.2.	Determinaciones en expeller de soja.....	62
4.4.3.	Correlaciones entre las variables de composición y calidad del poroto y del expeller de soja	68
4.4.4.	Caracterización microbiológica.....	69
4.4.4.1.	Recuentos de unidades formadoras de colonias.....	69
4.4.4.2.	Frecuencias de aislamientos e identificación de géneros/especies.....	71

4.4.4.3.	Micotoxinas en poroto y expeller de soja.....	73
4.5.	DISCUSIÓN	75
4.5.1.	Composición y variabilidad del poroto de soja.....	75
4.5.1.1.	Eficiencia de extracción de aceite de expeller de soja	77
4.5.1.2.	Indicadores de calidad del aceite y proteína de soja.....	80
4.5.1.3.	Contenido de humedad de grano individual	83
4.5.1.4.	Características físicas del expeller de soja.....	85
4.5.1.5.	Calidad y variabilidad intra-planta del expeller de soja.....	86
4.5.2.	Caracterización microbiológica	88
4.5.2.1.	Recuento de unidades formadoras de colonias	88
4.5.2.2.	Frecuencias de aislamientos e identificación de géneros/especies.....	89
4.5.2.3.	Micotoxinas en poroto y expeller de soja.....	90
4.6.	CONCLUSIONES PARCIALES	94
5.	Capítulo II: Eficiencia de extracción de aceite por extrusado-prensado .	95
5.1.	INTRODUCCIÓN	96
5.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	98
5.3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	99
5.3.1.	Toma de muestras de poroto y expeller de soja.....	99
5.3.2.	Composición del poroto y del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano	100
5.3.3.	Eficiencia de extracción	100
5.3.4.	Contenido de humedad de grano individual	100
5.3.5.	Análisis estadístico	101
5.4.	RESULTADOS.....	102
5.4.1.	Composición de poroto y expeller de soja	102
5.4.2.	Efecto de la humedad del grano en la eficiencia de extracción de aceite	105
5.4.3.	Efecto de temperatura de secado en la eficiencia de extracción de aceite	105
5.4.4.	Efecto del contenido de humedad de grano individual de soja sobre la eficiencia de extracción.....	106
5.5.	DISCUSIÓN	108
5.5.1.	Efecto de la humedad del grano en la eficiencia de extracción ..	108

5.5.2.	Efecto de temperatura del aire de secado en la eficiencia de extracción	111
5.5.3.	Efecto del contenido de humedad de grano individual de soja sobre la eficiencia de extracción.....	111
5.6.	CONCLUSIONES PARCIALES	116
6.	Capítulo III: Almacenamiento del expeller de soja.....	117
6.1.	INTRODUCCIÓN	118
6.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	122
6.3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	123
6.3.1.	Condiciones de almacenamiento seguro de expeller de soja.....	123
6.3.1.1.	Determinación de isotermas de sorción	123
6.3.1.1.1.	Selección y preparación de las muestras de expeller de soja	123
6.3.1.1.2.	Procedimiento experimental para determinar las relaciones de CHE/HRE	123
6.3.1.1.3.	Ajuste y comparación de modelos de sorción	124
6.3.1.2.	Ensayo de respiración y actividad microbiológica	125
6.3.1.2.1.	Acondicionamiento de las muestras.....	125
6.3.1.2.2.	Ensayo de respiración.....	125
6.3.1.1.1.	Recuentos de unidades formadoras de colonias	127
6.3.2.	Evaluación de condiciones de almacenamiento de expeller de soja	127
6.3.2.1.	Obtención de muestras de expeller de soja y diseño experimental del ensayo	127
6.3.2.2.	Análisis de composición y calidad del expeller de soja almacenado	129
6.3.2.2.1.	Determinación de color	129
6.3.2.2.2.	Composición del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano	129
6.3.2.2.3.	Acidez del aceite residual del expeller de soja.....	129
6.3.2.2.4.	Recuentos de unidades formadoras de colonias	129
6.3.2.2.5.	Micotoxinas en el expeller de soja	130
6.3.2.2.6.	Evolución de gases (O ₂ y CO ₂)	130
6.3.3.	Análisis estadístico	130
6.4.	RESULTADOS.....	132

6.4.1.	Condiciones seguras de almacenamiento del expeller de soja ..	132
6.4.1.1.	Isotermas de sorción del expeller de soja	132
6.4.1.1.1.	Contenido de humedad de equilibrio del expeller de soja....	132
6.4.1.1.2.	Obtención de parámetros de los modelos de predicción de isotermas de sorción de expeller de soja.....	132
6.4.1.1.3.	Comparación entre el modelo de Halsey Modificado y el modelo de Halsey Mejorado	133
6.4.1.2.	Respiración del expeller	135
6.4.2.	Almacenamiento del expeller de soja: análisis de composición y calidad del expeller de soja almacenado	136
6.4.2.1.	Evolución de gases (O ₂ y CO ₂) durante el almacenamiento del expeller de soja.....	136
6.4.2.2.	Evolución del color del expeller almacenado.....	137
6.4.2.3.	Composición del expeller de soja almacenado	139
6.4.2.4.	Evolución de la acidez en el expeller de soja almacenado.....	140
6.4.2.5.	Evolución de la actividad microbiológica	143
6.4.2.6.	Frecuencia de aislamiento.....	146
6.4.2.7.	Micotoxinas en expeller de soja almacenado	146
6.5.	DISCUSIÓN	148
6.5.1.	Condiciones seguras de almacenamiento del expeller de soja ..	148
6.5.1.1.	Efecto del contenido de aceite residual del expeller de soja en las relaciones de humedad de equilibrio	148
6.5.1.2.	Contenido de aceite residual del expeller y contenido de humedad de almacenamiento seguro.....	149
6.5.1.3.	Respiración y actividad microbiológica.....	151
6.5.1.4.	Tiempo de almacenamiento seguro	152
6.5.2.	Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad del expeller de soja.....	154
6.5.2.1.	Efectos del almacenamiento y la humedad sobre la calidad ...	154
6.5.2.2.	Evolución de la actividad microbiológica	156
6.5.2.3.	Recuento de especies fúngicas y evolución de micotoxinas en expeller	157
6.5.2.4.	Evolución del color del expeller de soja almacenado	158
6.5.2.5.	Evolución de la acidez.....	158
6.5.2.6.	Composición del expeller de soja almacenado	159

6.5.2.7. Efecto del agregado de gomas.....	160
6.5.3. Implicancias prácticas.....	160
6.6. CONCLUSIONES PARCIALES	162
7. Capítulo IV: Acondicionamiento de la materia prima y su efecto en aspectos de calidad funcional	164
7.1. INTRODUCCIÓN	165
7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	170
7.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	171
7.3.1. Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas de soja	171
7.3.1.1. Recolección y acondicionamiento de las muestras	171
7.3.1.2. Calorimetría diferencial de barrido modulada.....	171
7.3.1.3. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	172
7.3.2. Tratamientos de secado de granos de soja.....	173
7.3.2.1. Tratamientos de secado de granos de soja en capa delgada a escala laboratorio	173
7.3.2.1.1. Selección y preparación de las muestras de poroto de soja	173
7.3.2.1.2. Curvas de cinética de secado a escala laboratorio	174
7.3.2.1.3. Secado de muestras a escala laboratorio	175
7.3.2.1.4. Efecto del secado a escala laboratorio en la calidad y funcionalidad de proteínas.....	176
7.3.2.1.4.1. Composición del poroto por espectroscopía en el infrarrojo cercano	176
7.3.2.1.4.2. Índice de dispersabilidad de proteínas	176
7.3.2.2. Tratamientos de secado a escala real.....	179
7.3.2.2.1. Secado de poroto de soja a escala real y muestreo	179
7.3.2.2.2. Preparación de las muestras de poroto y expeller de soja...	180
7.3.2.2.3. Efecto del secado a escala real en la calidad y funcionalidad	181
7.3.2.2.3.1. Composición del poroto y expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano	181
7.3.2.2.3.2. Solubilidad proteica en hidróxido de potasio	181
7.3.2.2.3.3. Índice de dispersabilidad de proteínas	181
7.3.3. Análisis estadístico	181
7.4. RESULTADOS.....	182

7.4.1.	Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas	182
7.4.1.1.	Calorimetría diferencial de barrido modulada.....	182
7.4.1.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	190
7.4.2.	Tratamientos de secado	194
7.4.2.1.	Curvas de cinética de secado en capa delgada a escala laboratorio.....	194
7.4.2.2.	Secado de muestras a escala laboratorio	195
7.4.2.3.	Efecto del secado a escala laboratorio.....	196
7.4.2.4.	Tratamiento de secado a escala real	199
7.5.	DISCUSIÓN	203
7.5.1.	Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas	203
7.5.1.1.	Grado de desnaturalización proteica por calorimetría diferencial de barrido modulada.....	203
7.5.1.2.	Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier	204
7.5.1.3.	Cambios estructurales y de funcionalidad de las proteínas de soja luego del proceso de extrusado-prensado	206
7.5.2.	Efecto del tratamiento de secado sobre el índice de dispersabilidad de proteínas.....	207
7.6.	CONCLUSIONES PARCIALES	211
8.	CONCLUSIONES GENERALES	212
9.	APORTES E IMPLICANCIAS PRÁCTICAS	216
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	217
	ANEXOS	231
	ANEXO I: Composición química del poroto de soja obtenida por medio de NIRS para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P	231
	ANEXO II: Composición química del expeller de soja para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P	232
	ANEXO III: Características físicas y de calidad del expeller de soja para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P	233
	ANEXO IV: Cuantificación de diferentes micotoxinas analizadas para poroto de soja provenientes de diferentes plantas de E-P	234
	ANEXO V: Cuantificación de diferentes micotoxinas analizadas para expeller de soja provenientes de diferentes plantas de E-P	235

ANEXO VI: Ensayos preliminares para ajustar el procedimiento para determinar las isotermas de sorción del expeller de soja.....	236
1. Introducción	236
2. Metodología.....	236
2.1. Selección y preparación de las muestras de expeller de soja .	236
2.2. Determinación del tiempo de estabilización del expeller de soja a 25 °C	236
2.3. Determinación del contenido de humedad por el método de estufa	237
2.4. Determinación del CHE del expeller de soja a través de exponer la muestra a 70% de HR a diferentes temperaturas.....	238
2.5. Determinación del CHE del expeller de soja a través del acondicionamiento de la muestra a humedades específicas	239
3. Resultados.....	239
3.1. Determinación del tiempo de estabilización del expeller de soja a 25 °C	239
3.2. Determinación del CHE del expeller de soja a 70% de HR a diferentes temperaturas	240
3.3. Comparación de metodologías para determinación de isotermas de sorción.....	242
4. Conclusiones	244
ANEXO VII. Evolución de la concentración de gases (O ₂ y CO ₂) para el expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones	245
ANEXO VIII: Evolución de los parámetros del color L*a*b* del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones	250
ANEXO IX. Evolución de la composición del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones.....	252
ANEXO X: Determinaciones de la acidez del expeller de soja antes y después de ser almacenado bajo diferentes condiciones.....	254
ANEXO XI: Evolución de recuentos de unidades formadoras de colonias transformados del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones	255
ANEXO XII. Micotoxinas detectadas en el expeller de soja antes y después de ser almacenado bajo diferentes condiciones	257
ANEXO XIII. Unidades formadoras de colonias promedio del ensayo de almacenabilidad del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual y diferentes condiciones de CHE/HRE a 20 °C	258

Anexo XIV: Relaciones de humedad (MR) obtenidas a los diferentes tiempos de registro de pérdida de peso para las 5 temperaturas evaluadas en el secado a escala laboratorio 259

ANEXO XV: Índice de dispersabilidad de proteínas (PDI) de muestras de poroto de soja sometidas a diferentes tratamientos de secado a escala laboratorio 261

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Caracterización de la molienda de soja en Argentina.....	36
Tabla 2. Composición del poroto de soja por medio de NIRS para cada una de las plantas de E-P evaluadas	60
Tabla 3. Valores promedios, desvío estándar y coeficiente de variación de la humedad de los granos individuales de soja provenientes de 10 muestras recolectadas de distintas plantas de E-P	61
Tabla 4. Características físicas del expeller de soja para cada una de las plantas de E-P evaluadas.....	63
Tabla 5. Composición del expeller de soja medida por NIRS para cada una de las plantas de E-P evaluadas	65
Tabla 6. Parámetros de calidad determinados para expeller de soja para todas las muestras analizadas de diferentes plantas de E-P	67
Tabla 7. Coeficientes de correlación de Pearson para parámetros de composición y calidad del poroto y del expeller de soja.....	69
Tabla 8. Contenido de humedad y recuento de hongos y levaduras para el expeller de cada una de las plantas de E-P donde se realizaron los muestreos	71
Tabla 9. Composición y frecuencias de aislamiento de géneros de las poblaciones de hongos asociadas con el expeller de soja producido en diferentes zonas productivas de Argentina	72
Tabla 10. Hongos micotoxigénicos encontrados en expeller de soja de cada una de las plantas de E-P evaluadas	73
Tabla 11. Micotoxinas analizadas en poroto y expeller de soja provenientes de diferentes plantas de E-P	74
Tabla 12. Composición del poroto de soja analizada por medio de NIRS sometido diferentes tratamientos de secado a escala real para evaluar eficiencia de extracción de aceite.....	103
Tabla 13. Composición del expeller de soja analizada por medio de NIRS obtenido a partir del poroto de soja sometido a los diferentes tratamientos de secado a escala real para evaluar eficiencia de extracción de aceite	104
Tabla 14. Efecto del contenido de humedad del poroto de soja alcanzado luego de ser sometido al tratamiento de secado a escala real en la eficiencia de extracción de aceite luego del proceso de E-P	105
Tabla 15. Efecto del tratamiento de secado a escala real realizado al poroto de soja hasta alcanzar la humedad óptima en la eficiencia de extracción de aceite luego del proceso de E-P	106
Tabla 16. Contenido de humedad de grano individual del poroto de soja sometido a diferentes tratamientos de secado antes del ingreso al proceso de E-P	107
Tabla 17. Humedad relativa de equilibrio y contenido de humedad de equilibrio a diferentes temperaturas para el expeller de soja con diferente contenido de aceite.....	132

Tabla 18. Parámetros y estadísticos utilizados de los modelos de Halsey Modificado y de Halsey Mejorado para predecir las isotermas de sorción del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual	133
Tabla 19. Tasa de respiración promedio para el expeller de soja con diferente contenido de aceite residual y diferentes condiciones de CHE/HRE a 20 °C	136
Tabla 20. Composición inicial y final del expeller de soja para los contenidos de humedad evaluados y condiciones de almacenamiento hermética y convencional	140
Tabla 21. Recuentos de Log10 UFC/g de MS para cada una de las condiciones de almacenamiento y humedad evaluadas en los diferentes tiempos de almacenamiento de expeller.....	145
Tabla 22. Composición de las poblaciones de hongos asociadas con el expeller de soja almacenado durante 189 días bajo diferentes condiciones	146
Tabla 23. Micotoxinas en expeller de soja (iniciales y finales) almacenado bajo diferentes condiciones.....	147
Tabla 24. Tiempo de almacenamiento necesario para alcanzar 0,1, 0,5 y 1% de PMS para expeller con diferentes contenidos de aceite y condiciones CHE / HRE a 20 °C.....	153
Tabla 25. Temperaturas de los picos para dispersiones en agua y en NaCl (1 M)	183
Tabla 26. Entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica en poroto y expeller de soja disperso en NaCl (1 M), correspondientes a los termogramas obtenidos.....	188
Tabla 27. Entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica en poroto y expeller de soja disperso en agua, correspondientes a los termogramas obtenidos.....	189
Tabla 28. Valores de coeficiente k y constante n del modelo de Page calculados para los tratamientos térmicos evaluados	195
Tabla 29. Tiempos de secado estimados para alcanzar la humedad deseada (11,7% b.s.) para las diferentes temperaturas evaluadas con el intervalo de confianza correspondientes a la estimación ($p < 0,05$)	196
Tabla 30. Composición del poroto de soja medida por NIRS del poroto de soja sometido a diferentes tratamientos de secado a escala laboratorio.....	197
Tabla 31. Composición del poroto de soja por medio de NIRS antes y después de ser sometido a diferentes tratamientos de secado	199
Tabla 32. Composición y calidad del expeller de soja analizadas por NIRS obtenido a partir del poroto de soja sometido a los diferentes tratamientos de secado a escala real	200
Tabla 33. Efecto de las diferentes etapas de procesamiento en el índice de dispersabilidad de las proteínas para los dos tratamientos térmicos evaluados	202

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolución de las superficies sembradas, cosechadas y la producción de soja en Argentina durante los últimos cinco años	28
Figura 2: Estructura de la semilla entera de soja donde se indican las partes que la componen.....	30
Figura 3. Estructura de un esferosoma	31
Figura 4. Principales zonas de producción de soja en Argentina y localización de las plantas de E-P de las cuales se obtuvieron muestras de poroto y expeller de soja.....	45
Figura 5. Copa chica y grande utilizada para materiales homogéneos y heterogéneos respectivamente, para la determinación por NIRS	49
Figura 6: En la Figura A (izquierda) se observa el Colorímetro Minolta CR-300 utilizado para la determinación de color y en la Figura B (derecha) se observa el accesorio CR-450 para materiales granulares	50
Figura 7: Instrumento de medición diseñado para medir el ángulo de reposo del expeller de soja	50
Figura 8: Instrumento de medición diseñado para medir la densidad volumétrica del expeller de soja donde se aprecia la comparación entre la balanza de Schopper y el instrumento diseñado	52
Figura 9. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual, determinado para cada una de las muestras analizadas	62
Figura 10. Recuento de hongos filamentosos y levaduras (Log10 UFC/g de MS) determinados en muestras de expeller de soja para cada una de las plantas de E-P evaluadas.....	70
Figura 11. Efecto del contenido de humedad del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite (EfEx), y en los contenidos de proteína (CPE) y de aceite (CAe) del expeller de soja.....	80
Figura 12. Variabilidad del contenido de humedad de grano individual de tres muestras (baja, intermedia y alta variabilidad) de poroto de soja y eficiencia de extracción de aceite por E-P	84
Figura 13. Efecto de la temperatura de extrusión en los parámetros L*a*b* del color para expeller de soja obtenido de diferentes plantas de E-P.....	86
Figura 14. Valores promedio del contenido de aceite residual del expeller de soja (CAe) y de contenido de humedad del poroto de soja (CHp) de muestras recolectadas de diferentes plantas de E-P	87
Figura 15. Efecto del contenido de humedad (A, C, E) y del contenido de aceite (B, D, F) del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite (A, B), el contenido de humedad (C, D) y el contenido de aceite (D, E) del expeller. ...	110
Figura 16. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual para cada una de las repeticiones de los tratamientos de secado realizados a diferentes temperaturas	113

Figura 17. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual para cada una de las repeticiones de los tratamientos de secado realizados para alcanzar diferentes humedades finales.....	114
Figura 18. Variabilidad del contenido de humedad de grano individual para los diferentes tratamientos de secado de poroto de soja evaluados y eficiencia de extracción de aceite por E-P	115
Figura 19. Residuales estandarizados del Modelo de Halsey Modificado versus valores ajustados (CHE % b.s.) para los tres contenidos de aceite residual evaluados.....	134
Figura 20. Residuales estandarizados del modelo de Halsey Mejorado versus los valores ajustados (CHE, % b.s.) para los tres contenidos de aceite residual evaluados, a) sin modelar la heterogeneidad de varianza, y b) modelando la heterogeneidad de varianza.....	134
Figura 21. Valores de CHE observados (símbolos) y predichos con el modelo de Halsey Mejorado (línea negra continua) para a) 6,2%, b) 9,6%, c) 15,3% de aceite a 10 °C (izquierda) y a 20°C (derecha).....	135
Figura 22. Evolución de la concentración de gases (O ₂ y CO ₂) para el expeller de soja almacenado herméticamente a tres humedades A) con gomas; B) sin gomas	137
Figura 23. Evolución de la luminosidad en el color del expeller de soja, evaluado a diferentes tiempos de almacenamiento para los sistemas de almacenamiento A) hermético y B) convencional.....	138
Figura 24. Gráfico de comparación de medias del parámetro L* (luminosidad) del color para A) los tiempos de almacenamiento evaluados y B) el contenido de humedad (CH) de almacenamiento.....	139
Figura 25. Residuales estandarizados versus valores ajustados luego del modelado por grupos de la varianza de los datos obtenidos para acidez	141
Figura 26. Medias para la acidez del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones.....	142
Figura 27. Gráfico de comparación de medias de la acidez del expeller de soja para el efecto principal TyAlm	143
Figura 28. Evolución de recuentos de unidades formadoras de colonias en muestras almacenadas en una condición A) hermética y B) no hermética o convencional para las tres humedades evaluadas y con o sin agregado de gomas (C y S, respectivamente)	144
Figura 29. Valores de CHE predichos con el modelo Halsey Mejorado para el expeller de soja con diferentes contenidos de aceite residual (Isoterma a 20 °C)	149
Figura 30. Contenido de humedad de almacenamiento seguro (% b.s.) del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual predicho con el modelo Halsey Mejorado para tres contenidos de aceite (entre 7 y 15%) y temperaturas entre 5 a 25 °C (HRE de 67%)	151
Figura 31. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de los contenidos que se muestran en la introducción del Capítulo IV	168

Figura 32. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de la secuencia lógica de las actividades desarrolladas para llevar a cabo el objetivo 10 del Capítulo IV.....	171
Figura 33. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de la secuencia lógica de las actividades desarrolladas para llevar a cabo el objetivo 11 del Capítulo IV.....	173
Figura 34. Termogramas de dispersiones en NaCl (1 M) de muestras de poroto (línea sólida superior) y expeller de soja (línea punteada inferior) recolectadas en distintas plantas de E-P.....	187
Figura 35. Espectros FTIR obtenidos para los pares de muestras de poroto (P) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, para un rango de longitudes de onda entre 900 y 1800 cm^{-1}	191
Figura 36. Espectros FTIR obtenidos para los pares de muestras de poroto (S) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, correspondientes para amida I (A y C) en longitudes de onda entre 1600 – 1700 cm^{-1} y amida III (B y D) en longitudes de onda entre 1220 - 1320 cm^{-1}	193
Figura 37. Espectro FTIR obtenido para pares de muestras poroto (S) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, con bajo nivel de aceite residual en el expeller (A) y alto nivel de aceite residual en el expeller (B)....	194
Figura 38. Valores de relación de humedad (MR) obtenidos y ajuste del modelo de Page para los diferentes tratamientos térmicos evaluados en poroto de soja	195
Figura 39. Efecto de la temperatura del aire de secado a escala laboratorio en el índice de dispersabilidad de proteína (PDI) del poroto de soja	198
Figura 40. Diagrama conceptual para la integración del trabajo desarrollado en los cuatro capítulos de la tesis	215

LISTADO DE ABREVIATURAS

a*	Parámetro a del sistema de determinación de color CIELab
AFB ₁	Aflatoxina B ₁
AFB ₂	Aflatoxina B ₂
AFG ₁	Aflatoxina G ₁
AFG ₂	Aflatoxina G ₂
AIC	Criterio de información Akaike (siglas en inglés)
AU	Actividad ureásica
aw	Actividad de agua (siglas en inglés)
b*	Parámetro b del sistema de determinación de color CIELab
BIC	Criterio de información Bayesiano (siglas en inglés)
b.h.	Base húmeda
b.s.	Base seca
BBTI	Factor antitriptico de Bowman-Birk (siglas en inglés)
CAA	Código Alimentario Argentino
CAe	Contenido de aceite residual del expeller de soja
CAp	Contenido de aceite del poroto de soja
CH	Contenido de humedad
CHAS	Contenido de humedad de almacenamiento seguro
CHE	Contenido de humedad de equilibrio
CHe	Contenido de humedad del expeller de soja
CHp	Contenido de humedad del poroto de soja
CPe	Contenido de proteína del expeller de soja
CPp	Contenido de proteína del poroto de soja
CV	Coeficiente de variación
DON	Deoxinivalenol
E	Expeller de soja

EfEx	Eficiencia de extracción de aceite
E-P	Extrusado-prensado
FA	Frecuencia de aislamiento
FB ₁	Fumonisina B ₁
FB ₂	Fumonisina B ₂
FTIR inglés)	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (siglas en
GMP	Buenas prácticas de manufactura (siglas en inglés)
HRE	Humedad relativa de equilibrio
KTI	Factor antitríptico de Kunitz (siglas en inglés)
L*	Parámetro L del sistema de determinación de color CIELab
MDSC	Calorimetría diferencial de barrido modulada (siglas en inglés)
MR	Relación de humedad (siglas en inglés)
MRD	Desviación relativa media (siglas en inglés)
MS	Materia seca
MSe	Materia seca del expeller de soja
n	Número de muestras
NIRS	Espectroscopía de infrarrojo cercano (siglas en inglés)
p	Nivel de significancia
P	Poroto de soja
PDI	Índice de dispersabilidad de proteínas (siglas en inglés)
PH	Peso hectolítrico
PMS	Pérdida de materia seca
PyMEs	Pequeñas y medianas empresas
r	Coeficiente de correlación de Pearson
R ²	Coeficiente de correlación
R _c ²	Coeficiente de determinación

SD	Desvío estándar (siglas en inglés)
SE	Error estándar (siglas en inglés)
SECV	Error estándar de la validación cruzada (siglas en inglés)
TAS	Tiempo de almacenamiento seguro
TyAlm	Combinación de tiempo y tipo de almacenamiento
UFC	Unidades formadoras de colonias

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las semillas oleaginosas pertenecen a numerosas familias de plantas y se utilizan no sólo como fuente de aceite sino también como materia prima para diversas industrias. Entre los cultivos de semillas oleaginosas más comunes encontramos soja, sésamo, cártamo, girasol y maní entre otros.

El aceite que se extrae de las oleaginosas se utiliza en alimentos como así también como materia prima en la industria oleoquímica. Hace algunos años ha crecido el uso de cultivos oleaginosos como una de las principales fuentes para la fabricación de biodiesel (Waseem *et al.*, 2017).

La soja (*Glycine max*) pertenece a la familia botánica de las leguminosas y es el cultivo con mayor producción de aceite vegetal a nivel mundial. Por esta razón, la soja también se incluye en el grupo de las oleaginosas junto con otros cultivos como canola, girasol y aceituna, entre otros (Endres, 2001). No sólo es ampliamente utilizada por la extracción de aceite, sino que además proporciona una importante cantidad de proteínas de alto valor biológico y funcional (Gladysz *et al.*, 2017). Por tal motivo, la soja es considerada una de las oleaginosas más importantes debido a sus aplicaciones en nutrición humana, en formulaciones de alimentos balanceados para animales, y en otras industrias.

1.1. Soja: origen y antecedentes históricos del cultivo

El cultivo de soja es nativo de Asia del Este, específicamente es originaria del norte y centro de China, donde ha desempeñado un importante papel nutricional en esa región. Durante siglos, la soja y sus productos derivados se han utilizado como fuente principal de proteínas para millones de personas en Oriente (Qiu y Chang, 2010).

Aunque el uso de alimentos a base de soja en Oriente se remonta a la antigüedad, hacia el año 3000 A.C. en China ya la consideraban una de las cinco semillas sagradas. El consumo de soja en la India comenzó en 1735, y en 1740 en el continente europeo, donde se plantaron las primeras semillas. Si bien en el año 1765 se introdujo en el continente americano (desde China y Londres), su historia en el mundo occidental data del siglo XX (Ridner, 2006).

La expansión a gran escala de la soja en Estados Unidos comenzó en 1954 y continúa hasta la actualidad, liderando la producción mundial con 123 millones de toneladas (t). El segundo país productor es Brasil, donde la producción se inició en 1940, y su producción actual está alrededor de 117 millones de t (USDA, 2019).

Los primeros cultivos de soja en la Argentina se realizaron en 1862, pero en 1925 se introdujeron nuevas semillas desde Europa y se trató de difundir el cultivo que, hasta ese entonces, tenía un potencial económico y valor nutritivo desconocidos. La primera exportación de 6000 t de soja argentina fue en 1962. A partir de entonces la producción fue incrementando notoriamente con los años hasta alcanzar en la actualidad más de 14,5 millones de hectáreas sembradas (Endres, 2001; MinAgro, 2017; Ridner, 2006).

1.2. Distribución geográfica y producción

La soja es la oleaginosa que más se cultiva a nivel mundial, teniendo en cuenta la superficie destinada al cultivo, como así también el volumen de producción obtenido. Su producción mundial alcanzó 362,9 millones de t métricas en 2018/2019 (USDA, 2019). El aumento en la producción de soja puede deberse tanto al aumento de los rendimientos en la cosecha como a la creciente demanda para subsanar las necesidades mundiales de alimentos y combustible. En la actualidad EEUU continúa siendo el mayor productor de soja a nivel mundial con un 34,1% de la producción, seguido por Brasil (32,2%), Argentina (15,4%), China (4,4%), India (3,2%), Paraguay (2,5%), Canadá (2%), y otros (6,2%) (USDA, 2019).

El cultivo de soja en Argentina ocupa una amplia zona del país, concentrándose principalmente en la Región Pampeana, con cerca del 95% de la producción total. Las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires son las que concentran la mayor parte de la producción por área sembrada y además con los mayores rendimientos (MinAgro, 2017). La expansión de la soja en la Argentina ha demostrado un avance importante en los últimos 30 años. La superficie cultivada en todo el país ha crecido al 56% causando el desplazamiento de otros cultivos (como maíz, girasol y trigo) (Bragachini *et al.*, 2017).

En la Figura 1 se muestra la evolución de las superficies sembradas y cosechadas en Argentina, registrándose una disminución a partir de la campaña 2015/2016. Esto se debió a la quita de las retenciones en otros cultivos como el maíz que lo hicieron más atractivo y por lo tanto se incrementó su área de siembra (de 6 a 9,1 millones de Ha).

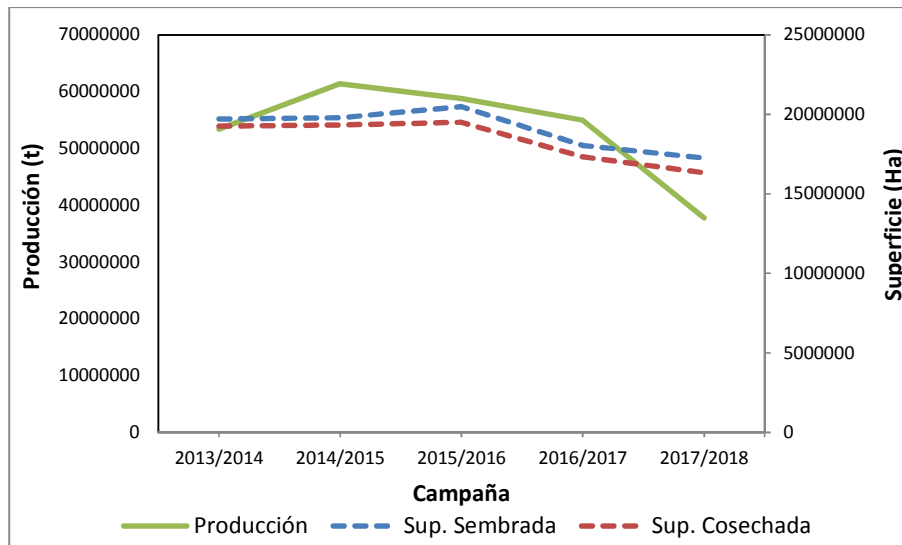


Figura 1: Evolución de las superficies sembradas, cosechadas y la producción de soja en Argentina durante los últimos cinco años. Elaboración propia en base a datos informados por la Secretaría de Agroindustria (2019)

En la campaña 2014/2015 la producción de soja en Argentina fue la mayor registrada en los últimos 5 años. La producción fue de 61,3 millones de t, de las cuales se procesaron en la industria aceitera 40,9 millones de t y sólo se industrializaron y transformaron en origen, principalmente por pequeñas industrias, el 7-8% de la producción (Bragachini *et al.*, 2017; MinAgro, 2017; Secretaría de Agroindustria, 2019).

En la campaña 2017/2018 se registró una importante baja en la producción de soja (37,7 millones de t), debido principalmente a una sequía que se sufrió en las principales zonas de producción de este cultivo. Esto generó una notable baja en el rendimiento del cultivo, obteniendo sólo 2.212 kg/Ha contra 2.955 kg/Ha obtenidos en la campaña anterior (Secretaría de Agroindustria, 2019) como se muestra en la Figura 1.

1.3. Características morfológicas del cultivo de soja

La soja (*Glycine Max*) es una planta herbácea anual, normalmente pubescente, perteneciente a la familia de las leguminosas de primavera-verano, cuyo ciclo vegetativo oscila entre los tres y los siete meses. Las hojas, los tallos y las vainas son pubescentes, variando el color de los pelos de rubio a pardo más o menos grisáceo. Es de altura variable, poco o muy ramificada dependiendo de la variedad y de las condiciones ambientales (Valencia Ramírez, 2006). Las hojas son compuestas (excepto las basales que son simples), son trifoliadas, con los folíolos oval-lanceolados y pedúnculos cortos. Su color verde característico se torna amarillo en la madurez, donde finalmente la planta se queda sin hojas. El tallo es rígido y adquiere alturas variables que van desde 0,4 a 1,5 m, según las variedades y las condiciones del cultivo. En la unión del tallo principal con las hojas se forman las yemas axilares que dan origen a ramas o a racimos de flores. Por lo general, la floración se inicia en el cuarto nudo y está controlada por el fotoperíodo, la temperatura y el genotipo. Las flores son de color blanco púrpura o combinadas (blanco con púrpura), según la variedad. El color de la flor está relacionado con el color del hipocótilo. La flor tiene un cáliz tubular y una corola de cinco pétalos, cuenta con un ovario (2 a 5 óvulos), diez estambres (nueve soldados y uno libre) y un pistilo. Por ser una flor completa y dada su estructura, la soja se autofecunda, aunque puede existir polinización cruzada (Guerrero García, 1999; Kumudini, 2010; Perkins, 1995; Valencia Ramírez, 2006).

El fruto es una vaina que contiene de una a cuatro semillas. La semilla es generalmente esférica y de color amarillo. Su tamaño es mediano, oscilando el peso de 1000 granos entre 150 y 220 g (Bartosik *et al.*, 2017).

La soja tiene un importante sistema radical, la raíz principal puede alcanzar hasta un metro de profundidad, aunque lo normal es que no sobrepase los 40-50 cm. Una de las características agronómicas más importantes de la soja es que puede tomar nitrógeno del aire y hacer que este quede disponible para que lo use la planta. Esto es posible ya que en la raíz principal o en las secundarias se encuentran los nódulos que son asociaciones simbióticas entre bacterias y plantas superiores. Estas son las responsables de la conversión del nitrógeno atmosférico en nitrógeno disponible para las plantas, que es utilizado para la

formación de proteínas. Específicamente en soja, la asociación se da con la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* (Asbridge, 1995; Guerrero García, 1999; Valencia Ramírez, 2006).

1.4. Estructura y composición química de la semilla de soja

Al llegar a la madurez, las semillas de soja tienen una forma casi esférica, aunque varían de acuerdo con las variedades y las condiciones de cultivo. La semilla consta de tres partes principales: la cubierta o tegumento, los cotiledones y el germen o hipocótilo. La cubierta de la semilla contiene el hilo, que es el punto de unión a la vaina. Las características estructurales básicas de la semilla de soja se muestran en la Figura 2. Está compuesta por la cáscara, los cotiledones y el eje hipocótilo que representan aproximadamente el 8, 90 y 2% de la semilla, respectivamente (Kumudini, 2010; Perkins, 1995). Existen diferentes variedades de semillas de soja y en general son similares en cuanto a su estructura, aunque varían considerablemente en el color.

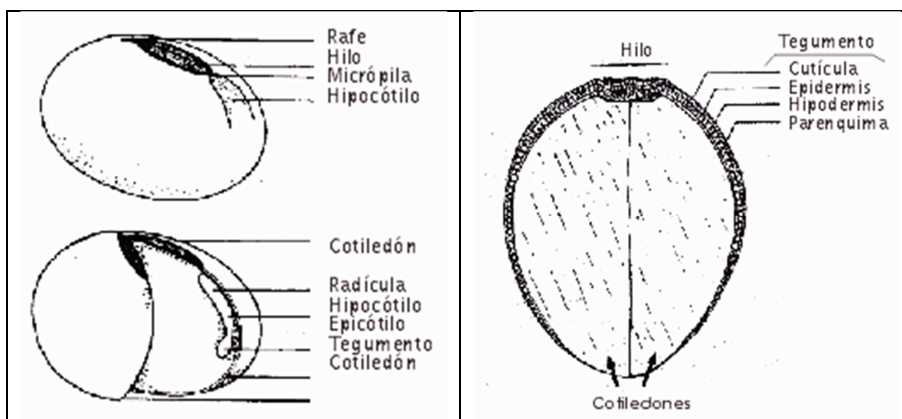


Figura 2: Estructura de la semilla entera de soja donde se indican las partes que la componen. Fuente: PRECOP

La mayor parte de las proteínas en la semilla de soja se encuentra en los cotiledones, almacenada en cuerpos proteicos que tienen un diámetro variable entre 2 y 20 μm . Por otro lado, el aceite, en estado nativo, se deposita dentro del cotiledón en compartimentos conocidos como oleosomas o esferosomas. Estas estructuras se forman de pequeñas gotitas de aceite rodeadas por una membrana de fosfolípidos y proteínas (con un diámetro de 0,2 a 0,5 μm), que empaquetan el aceite, otorgándole una alta estabilidad durante el secado y almacenamiento (Figura 3) (Salunkhe et al., 1992).

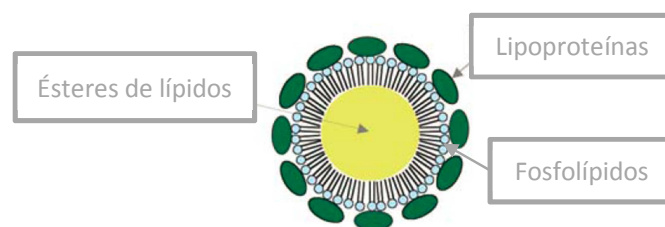


Figura 3. Estructura de un esferosoma. Fuente: Fujimoto y Ohsaki (2006).

Los cotiledones contienen el mayor porcentaje de proteínas y aceites, mientras que la cáscara es la que menor cantidad de estos componentes tiene. El contenido de aceite en la cáscara es tan bajo que es considerado como traza. Por otro lado, el eje hipocótilo tiene un contenido de proteína similar a los cotiledones, pero aproximadamente la mitad de aceite. El componente principal de la semilla es el cotiledón, por eso su composición es muy similar a la de la semilla entera (Liu, 1997).

La composición química de la soja puede variar de acuerdo con las diferentes variedades y las condiciones en las que se desarrolle el cultivo, ubicación geográfica y condiciones ambientales. En general, la composición promedio del poroto de soja en base seca (b.s.) y en peso es: 40% de proteína, 20% de aceite, 35% de hidratos de carbono y 5% de ceniza (Liu, 1997).

La calidad del poroto de soja destinado a la elaboración de alimentos tanto para consumo humano como para consumo animal está relacionada principalmente con los altos niveles de aceite y proteína en su composición. Se sabe que existe una correlación negativa entre contenido de proteínas y aceite.

Si bien la concentración proteica en soja es mayor que en el resto de las legumbres, no sólo es importante por la cantidad, sino que es muy importante por su calidad. El valor nutricional de las proteínas en soja está determinado por la concentración relativa de nitrógeno y azufre en el grano (Badui Dergal, 2006). Las proteínas de leguminosas tienen un bajo contenido de aminoácidos azufrados (metionina y cisteína). La soja, conocida como una proteína de origen vegetal de alto valor biológico, contiene estos aminoácidos en bajas cantidades (1,3 y 1,2 g/100 g de proteína, respectivamente), sin embargo son

suficientes para satisfacer los requerimientos mínimos de un adulto normal (Badui Dergal, 2006; Endres, 2001).

1.5. Procesos de extracción de aceite en soja

El proceso de extracción de aceite a partir de una oleaginosa, como es el caso del poroto de soja, se puede realizar utilizando dos métodos de extracción. El más utilizado especialmente por las grandes aceiteras multinacionales en Argentina y en el mundo, es el sistema de extracción por solventes. Por otra parte, el que llevan a cabo las pequeñas y medianas empresas (PyMEs) es mediante procesos de extracción física por medio del extrusado-prensado (E-P).

1.5.1. Extracción con solventes

En el proceso de extracción con solventes, el solvente más utilizado para esta actividad es el hexano. El hexano es un líquido incoloro con un olor parecido al petróleo, insoluble en el agua, que se evapora rápidamente formando vapores más densos que el aire, siendo su punto de ebullición entre 66 y 69 °C. Aunque es un solvente altamente inflamable, es muy utilizado por no ser explosivo. En comparación con otros solventes es el que menor riesgo para la salud representa a quienes lo manipulan, sin embargo, por inhalación o ingestión puede ser fatal. Generalmente se utiliza por ser el de menor costo (Biopack, 2019).

La extracción de aceite utilizando n-hexano permite obtener un 18-19% de aceite, es decir, se logra la extracción de casi la totalidad del aceite presente en el grano (>99%). Luego de la extracción, además del aceite, se obtiene un 80-82% de harina de soja. Esta puede comercializarse en forma de harina o bien en forma de pellet de soja (Bargale *et al.*, 1999).

Cerca del 90-93% de la soja en Argentina es procesada por medio de este método de extracción con solventes. El principal inconveniente que tiene esta extracción es que por más que se realiza una desolventización, a veces puede ocurrir que quedan ciertas cantidades residuales del solvente químico en las harinas producidas, y en algunos casos por encima de los niveles aceptables

para harinas de consumo (<5 mg/kg) (FAO/OMS, 1980). Por esta razón el Código Alimentario Argentino (CAA) establece como condición un muy bajo residuo de evaporación y bajo contenido en hidrocarburos aromáticos, debido a su alta toxicidad (Capítulo IX, CAA).

La extracción con solventes implica una alta demanda de energía para llevar a cabo los procesos involucrados (extracción, desolventización, recuperación del solvente, etc.), un gran costo de inversión inicial en equipamientos y seguridad, y capacitación constante del personal. La seguridad y capacitación son dos pilares fundamentales ya que es una actividad que presenta un alto riesgo de accidentes. Mantener al personal informado y capacitado permite reducir la frecuencia de ocurrencia de accidentes o, en el mejor de los casos, evitarlos.

La harina de soja desgrasada contiene menos de 1% de aceite y es rica en proteínas de alto valor biológico (>50% de proteínas). Cuando los niveles de solvente residual exceden el límite mencionado anteriormente, este subproducto obtenido debe procesarse principalmente para la alimentación animal o destinarse a otros usos, pero no podrá utilizarse para consumo humano (Bargale *et al.*, 1999).

1.5.2. Extracción por extrusado-prensado

El proceso de extracción de aceite utilizando procesos de E-P es un proceso relativamente nuevo en Argentina. Este método para la extracción de aceite comenzó a ser masivamente implementado por PyMEs en el año 2007 con el fin de extraer mecánicamente el aceite presente en el poroto de soja y en otras semillas oleaginosas, como es el caso del girasol (Bragachini *et al.*, 2017).

El proceso de E-P fue descrito por Nelson *et al.* (1987). Este proceso elimina la necesidad de utilizar costosos secadores, generadores y acondicionadores de vapor. El proceso de E-P extrae el aceite de las oleaginosas por medio de un simple sistema de tornillo sin fin que genera un aumento de la temperatura por fricción, rompiendo la matriz del grano y sometiénolo luego a una descompresión, que genera la formación de una pasta viscosa la cual posteriormente es prensada para extraer el aceite. Este proceso no sólo elimina el uso de solventes orgánicos, obteniendo un producto más saludable,

sino que elimina también los numerosos costos asociados al proceso de extracción con solventes.

Para llevar a cabo la extracción de aceite es necesario previamente realizar un acondicionamiento del material a extraer. El acondicionamiento consiste en realizar una limpieza con la finalidad de eliminar materias extrañas que pudieran acompañar a la masa de granos y en algunos casos realizar un secado del material antes de ingresar a la extrusora. El secado previo no sólo permite alcanzar una humedad de ingreso deseada, sino que permite calentar el material previo al ingreso a la extrusora con la finalidad de reducir el gasto energético de la misma. Otras operaciones que pueden llevarse a cabo antes del ingreso del material a la extrusora son el quebrado del grano, con la finalidad de mejorar el proceso de extracción, y la eliminación de cáscara por medio de un sistema de aspiración, ya que al quebrarse esta se libera fácilmente, lo que permite tener un expeller con mayor contenido de proteínas (Juan *et al.*, 2015).

El extrusado es la primera parte del proceso, consiste en el ingreso de la materia prima al tornillo del extrusor donde el material recibe una alta presión por un período de tiempo corto y se lo somete a una importante fricción que genera un aumento de la temperatura, y produce un cambio en la estructura de los componentes de la materia prima. Las condiciones en que se da el proceso son muy variables, ya que se utilizan distintos tipos de extrusores que trabajan bajo condiciones diferentes, pero en general el material es expuesto a una presión de aproximadamente 40 MPa durante un tiempo que generalmente es de 30 segundos, y la temperatura que se puede alcanzar en el cañón del extrusor va desde 100 hasta 165 °C (Nelson *et al.*, 1987; Bargale *et al.*, 1999).

Como resultado del calentamiento y la presión ejercida en el extrusor, el material se transforma en una pasta viscoelástica y caliente que circula por el tornillo del extrusor. Al someterse a temperaturas tan elevadas, en el caso particular de la soja, los factores antinutricionales presentes en su composición logran ser inactivados (Zhang y Parsons, 1993). En algunos casos la temperatura alcanzada resulta insuficiente y esta inactivación no ocurre. Por lo tanto es necesario controlar la temperatura alcanzada durante el proceso y la actividad ureásica (indicador indirecto de la inactivación de los factores

antinutricionales) del producto extrusado. Al llegar a la salida del tornillo la pasta semilíquida sufre una descompresión producto del cambio drástico de presión al salir al exterior (a presión atmosférica) (Bargale *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 1987).

Como resultado del proceso de E-P se obtienen aproximadamente un 12 - 14% de aceite y un 86 - 88% de expeller de soja, con un contenido de aceite residual en el expeller que se encuentra entre 5 y 8% (Bragachini *et al.*, 2017). Dado el alto contenido de aceite que queda retenido en la matriz del expeller, la eficiencia de extracción de aceite por este sistema es menor que la lograda por medio de disolventes (>70% en condiciones óptimas), pero el subproducto obtenido es más saludable, debido principalmente a la ausencia de residuos de solventes orgánicos, tóxicos para la salud (Nelson *et al.*, 1987).

En nuestro país existen numerosas PyMEs que desarrollan procesos de E-P para la extracción de aceite y comercialización. Esta actividad tuvo su mayor crecimiento cuando se incrementó considerablemente el área de producción de la soja en la campaña 2014/2015. Durante el 2017, la industria aceitera, particularmente la dedicada a la extracción por E-P logró alcanzar su máxima producción de expeller de 720 mil t. Durante el 2018 esta descendió debido al descenso en la producción y rendimientos de soja, alcanzando las 533 mil t (Secretaría de Agroindustria, 2019).

Si bien se dan variaciones en términos de eficiencia técnica, las plantas operan con un rendimiento promedio, por t procesada, de 82% en expeller y 14% en aceite crudo. Según Castellano y Goizueta (2011), se observa que alrededor del 69% de los ingresos provienen de la comercialización del expeller, mientras que el aceite crudo aporta el 30%. El aceite se comercializa con facilidad, siendo las grandes aceiteras los principales compradores. El expeller, por el contrario, tiene una comercialización mucho más dificultosa y de ello depende la rentabilidad de la empresa, lo cual destaca su importancia para la industria de E-P.

En Argentina, sólo el 8% de la producción de soja es destinada a extracción por E-P en PyMEs (Tabla 1), el resto es generalmente procesado para obtener harina y aceite crudo que posteriormente son exportados por grandes empresas multinacionales, las cuales en su mayoría están radicadas en el

puerto de Rosario (Bragachini *et al.*, 2017), aportando beneficios limitados a la cadena de agregado de valor en origen. El sector de PyMEs que realizan la extracción de aceite por E-P en Argentina está conformado por alrededor de 450 plantas, que en su mayoría fueron originadas por emprendimientos asociativos de pequeños y medianos productores agropecuarios.

Tabla 1: Caracterización de la molienda de soja en Argentina

	Extracción por solvente	Extracción por E-P
Descripción del sector	Industrias grandes y medianas	Principalmente pequeñas industrias
Capacidad instalada	500 – 10.000 tn/día	24 – 80 tn/día
Productos obtenidos	Aceite crudo, aceite refinado, productos derivados del aceite (margarinas, mayonesas, shortening, etc.), biodiesel, harinas, flakes y pellets de soja	Aceite crudo, biodiesel, expeller de soja
Volúmenes procesados por año	88% de la producción nacional de soja	8% de la producción nacional de soja
Destinos	Exportación de todos sus productos y abastecimiento interno de aceite refinado	Mayormente mercado interno y autoconsumo

Fuente: Bragachini *et al.* (2017)

Desde el punto de vista nutricional, el expeller de soja tiene la ventaja de una mayor disponibilidad de energía digestible y aminoácidos en comparación con la harina de soja extraída con solventes (Zhang y Parsons, 1993). Además, el hecho de no utilizar disolventes orgánicos en el proceso de extracción de aceite, hace que el expeller de soja sea particularmente atractivo para aquellos productores de alimentos que quieren conservar las características naturales, sin restos de productos tóxicos en su composición (Crowe *et al.*, 2001).

1.6. Subproductos obtenidos del proceso de extrusado-prensado de soja

Según la norma XIX para subproductos de oleaginosos (SAGPyA, 1999) se entiende por subproductos oleaginosos, a los residuos sólidos resultantes de la extracción industrial del aceite de granos oleaginosos, obtenidos por presión y/o disolvente. De acuerdo al proceso de industrialización que sufren los mismos se define como expellers a aquellos residuos que surgen de la extracción por prensa continua.

El expeller de soja surge entonces como principal subproducto de la extracción de aceite por medio de un proceso de extrusado, seguido de un proceso de prensado mecánico continuo, es decir, el expeller y el aceite de soja son los principales subproductos.

Además del expeller, algunas empresas que utilizan este sistema de extracción realizan procesos para la obtención de concentrados y aislados proteicos como así también, elaboran proteína texturizada o micronizada de soja (Medic *et al.*, 2014).

Dependiendo de cuáles son las condiciones higiénico-sanitarias en el establecimiento de extracción por E-P, los diferentes subproductos elaborados podrán destinarse a uso en alimentación humana, animal u otros usos industriales.

1.7. Principales usos de la semilla de soja y sus subproductos

Un bajo porcentaje de la producción de soja es utilizada directamente para el consumo humano, en forma de poroto o como ingrediente en productos alimenticios, mientras que la mayor parte es procesada para producción de aceites, harinas y pellets de soja, utilizados en la formulación de alimentos balanceados para ganado vacuno, lechero, porcino y avícola (Gallardo, 2011).

Como se mencionó anteriormente, los principales subproductos obtenidos a partir del proceso de E-P del poroto de soja son el aceite y el expeller. El expeller de soja es utilizado generalmente como un alimento intermedio, como ración para animales, y el aceite extraído generalmente es empleado para alimentación humana.

Los principales usos en la industria alimentaria incluyen su agregado en formulaciones para lactantes, extensores para productos cárnicos, en productos horneados, en coberturas batidas, postres helados, y en bebidas proteicas, entre otras (Medic *et al.*, 2014).

Alrededor del 55% del aceite de soja, es utilizado en forma directa por los consumidores como aceite para cocinar y para ensaladas, el 24% como grasas y aceites para hornear y freír, un 4% como ingrediente en margarinas, un 7% para otros usos alimenticios e industriales, y 11% como sustrato para la

producción de biodiesel. Además de los subproductos obtenidos a partir de la extracción de aceite, existen otros subproductos que se utilizan para producir alimentos tradicionales de las culturas orientales, específicamente asiáticas, como lo son la leche de soja, salsa de soja y tofu, entre otros (Medic *et al.*, 2014).

La producción de expeller de soja a través del proceso de E-P ha resultado ser hasta el momento una actividad marginal de la industria, llevada adelante exclusivamente por PyMEs con escasos recursos económicos. Posiblemente ésta sea la causa por la que se han detectado importantes faltantes de información crítica para eficientizar el proceso de E-P, tanto desde el punto del acondicionamiento de la materia prima, el proceso mismo de E-P como en lo referido a la conservación del expeller. Dada la importancia que tiene la industria de E-P de soja para las comunidades del interior del país es que resulta pertinente ahondar en los procesos que condicionan su factibilidad técnica.

2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar prácticas de acondicionamiento de granos de soja para lograr una extracción eficiente de aceite y productos proteicos de calidad mediante extrusado-prensado y prácticas de almacenamiento del expeller de soja

3. HIPÓTESIS

1. La eficiencia de extracción del aceite durante el extrusado-prensado de poroto de soja se ve reducida por el aumento en el contenido de humedad del poroto
2. El almacenamiento hermético prolonga el tiempo de almacenamiento seguro del expeller de soja porque reduce la disponibilidad de oxígeno limitando el desarrollo de hongos y retardando los procesos oxidativos de deterioro del aceite residual presente en el producto extrusado
3. Las condiciones de secado del poroto de soja pueden provocar alteraciones como desnaturalización y agregación de las proteínas de soja y por lo tanto afectar sus propiedades funcionales

**4. *CAPÍTULO I: Caracterización
física, química y microbiológica del
expeller de soja***

4.1. INTRODUCCIÓN

Según la norma XIX los subproductos oleaginosos se definen de acuerdo con el proceso de industrialización que se les realice de la siguiente forma: expeller es el residuo de elaboración por prensa continua; harina de extracción es el resultado de la elaboración por disolvente y, salvo estipulación especial, no se diferencian por su granulación, pudiendo ser fina, en grumos, aglomerados o pedazos según los distintos sistemas de extracción y secado; y pellet es un producto comprimido que proviene del residuo de la extracción del aceite de granos oleaginosos (SAGPyA, 1999).

Específicamente, el expeller de soja es uno de los principales subproductos obtenidos a partir del proceso de E-P del poroto de soja que llevan a cabo las PyMEs en nuestro país. Estas PyMEs producen aceite crudo desgomado (12 - 14%) y expeller (86 - 88%) de soja, que generalmente se comercializan en el mercado interno (Bragachini *et al.*, 2017).

El expeller tiene la particularidad de presentar composición y calidad muy variables. Esta variabilidad podría atribuirse en parte al tipo de equipamiento y las condiciones durante el procesamiento (como presión y temperatura) que cada planta utiliza para realizar el E-P (Bargale *et al.*, 1999). También puede atribuirse a la composición de la materia prima utilizada (García-Rebollar *et al.*, 2016; Grieshop *et al.*, 2003) y particularmente su contenido de humedad (Zhu *et al.*, 1996).

Se sabe que el proceso de extracción del aceite y la calidad de la materia prima son las principales fuentes de variación de la calidad del expeller. Massigoge *et al.* (2013) evaluaron y compararon el contenido de humedad, de proteína y de aceite para el grano de soja previo a su procesamiento y para el expeller obtenido en diferentes plantas de E-P, observando que estos presentaban variabilidad en dichos parámetros. Los procesos de E-P en las plantas evaluadas se realizaron bajo condiciones que presentaron una amplia variación, principalmente en la temperatura (121 a 145 °C) y en el contenido de humedad del grano (entre 7,5 y 13,5%). Por otro lado, el INTI realizó un ensayo inter-laboratorio para determinar los parámetros más relevantes que determinan la calidad del expeller de soja: humedad, cenizas, materia grasa, proteína bruta y actividad ureásica (INTI, 2010).

En Argentina se encuentra en vigencia la norma XIX para subproductos oleaginosos (SAGPyA, 1999) que establece límites máximos de humedad, aceite y actividad ureásica en expeller (12,5% b.h., 9% b.s. y 0,2 u pH, respectivamente). Sin embargo, por una parte se desconoce si la humedad establecida por la norma asegura una conservación apropiada del producto, y por otra parte la norma no establece un límite mínimo de contenido de proteína. Sin embargo, los fabricantes de los equipos de E-P recomiendan una humedad de procesamiento de soja de entre 10 y 11% (b.h.) para maximizar la extracción de aceite (Bragachini *et al.*, 2017). Teniendo en cuenta que la humedad base de comercialización de soja en Argentina es 13,5% (b.h.), esta recomendación implica la eliminación de hasta 3,5 puntos porcentuales extras de humedad.

El resultado económico de las plantas de E-P está directamente relacionada a la eficiencia de extracción de aceite lograda, la cual fue estimada en menos de 70% para Argentina (Bragachini *et al.*, 2017; Juan *et al.*, 2015). Bargale *et al.* (1999) evaluaron el proceso de E-P bajo diferentes condiciones de temperatura y presión de trabajo y encontraron que la máxima eficiencia de extracción podría ser tan alta como 90,6%, implicando que hay una importante brecha entre lo observado en el medio y el potencial de la tecnología.

La calidad higiénico-sanitaria (microbiológica) de los granos y sus subproductos ha sido escasamente estudiada. Pacin (2006) realizó la evaluación de micotoxinas en granos de soja provenientes de diferentes regiones del país y encontró que entre el 28,7 y el 81,3% de las muestras estaban contaminadas con hongos toxigénicos. Zelaya *et al.* (2005) observaron la presencia de *Alternaria*, *Fusarium* y *Aspergillus* entre los principales géneros cuyas especies son potenciales productoras de micotoxinas, por lo que la caracterización de la microbiota que acompaña a los granos aportaría información relevante para inferir la calidad higiénico-sanitaria de los subproductos y el riesgo potencial asociado a la presencia de metabolitos tóxicos que pudieran afectar la salud humana y animal.

Las propiedades físicas de los granos, semillas y subproductos son importantes para diseñar los equipamientos relacionados con la aireación, secado, almacenamiento y transporte. La densidad aparente determina la capacidad de

los sistemas de almacenamiento y transporte, mientras que la densidad real es útil para equipos de separación (Ixtaina, 2010). La densidad volumétrica (peso hectolítrico) es la relación entre la masa de la muestra y el volumen que ocupa. Está influenciada por la forma, humedad y tamaño del producto, además del contenido de materias extrañas y granos quebrados de la muestra (Baryeh y Mangope, 2003; Gupta y Das, 1997). La densidad real es la relación de la masa de un grano o semilla individual con respecto al volumen que ocupa. A partir del conocimiento de estas propiedades se puede calcular el volumen de una semilla (como la relación de la masa de una semilla con la densidad real) y su diámetro equivalente.

Los sub-productos o residuos de oleaginosas presentan características muy particulares. Los análisis químicos y las evaluaciones sensoriales representan determinaciones clave para poder darle un uso en la elaboración de alimentos balanceados. En tal sentido el color es uno de los parámetros determinados en las evaluaciones sensoriales. El expeller de soja se considera aceptable cuando presenta un color habano claro, opaco y homogéneo (Gallardo, 2014). Además, el color de la harina de soja ha sido relacionado con la intensidad de los tratamientos térmicos realizados y con otros parámetros de calidad como por ejemplo la actividad ureásica (McNaughton *et al.*, 1981; Núñez-Romero *et al.*, 2009).

Si bien se estableció previamente la existencia de variabilidad en la composición química del expeller de soja producido en Argentina (Massigoge *et al.*, 2013), no se llegó a cuantificar el efecto de la composición de la materia prima sobre la composición del expeller. A su vez, existen antecedentes sobre evaluación microbiológica del poroto de soja, pero no se han reportado al momento datos sobre evaluación microbiológica y micotoxicológica del expeller de soja. Además, la determinación de las propiedades físicas del poroto y expeller de soja en función de muestras locales permitirá un mayor refinamiento en el cálculo y subsecuente diseño de sistemas de almacenamiento, transporte, limpieza y aireación para el subproducto del E-P de soja.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Caracterizar física, química y microbiológicamente el expeller de soja producido en plantas comerciales de extrusado-prensado de Argentina
- 2) Determinar las principales fuentes de variabilidad en la calidad y composición del expeller¹

¹ Como resultado de las investigaciones implicadas en los objetivos 1 y 2 se envió a una revista internacional con referato y se aceptó para su publicación el siguiente trabajo de investigación: Maciel G., Wagner J.R., Juan N.A., San Martino S., Bartosik R.E. Assessment of the main sources of variability of soybean (*Glycine max*) expeller composition and quality: a field study. CIGR Journal

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1. Recolección y preparación de las muestras

Los estudios de caracterización se realizaron durante el 2015 y 2016. El expeller de soja, fue recolectado de once PyMEs que realizan la extracción de aceite por medio de E-P, localizadas en las principales regiones productivas de la Argentina (seis plantas están localizadas en la provincia de Buenos Aires, dos en la provincia de Santa Fe, dos en la provincia de Córdoba y una en Entre Ríos) (Figura 4).

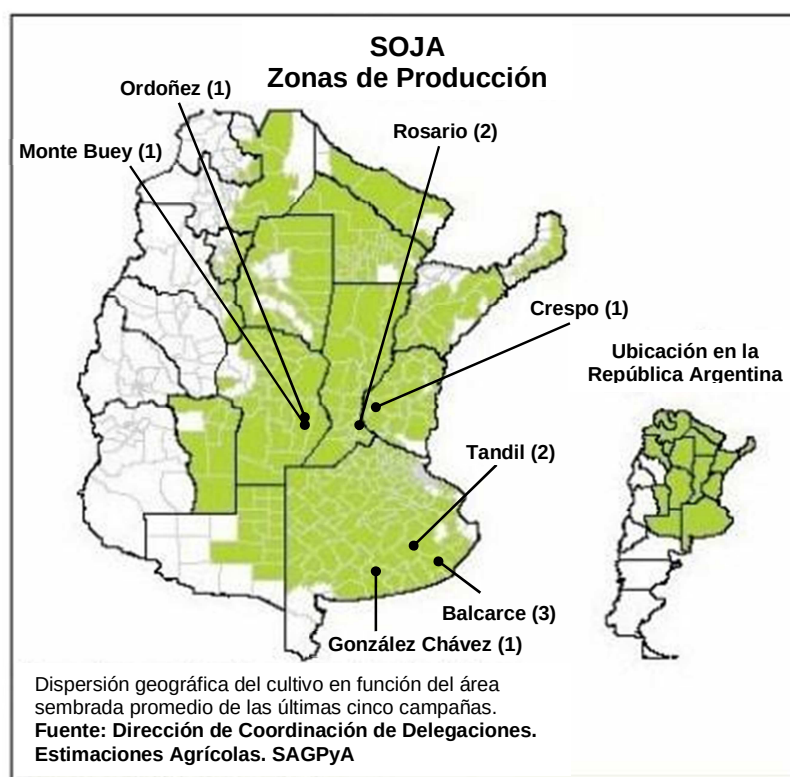


Figura 4. Principales zonas de producción de soja en Argentina y localización de las plantas de E-P de las cuales se obtuvieron muestras de poroto y expeller de soja. Fuente: SAGPyA (2010).

De cada planta de E-P se tomaron tres pares de muestras representativas del poroto que ingresaba al proceso y del expeller obtenido de manera continua. Los muestreos tanto de poroto como de expeller se realizaron durante tres días diferentes para evaluar la variabilidad interna que presenta cada planta de E-P en cuanto a las condiciones en que se lleva a cabo el proceso de producción.

Las muestras de poroto de soja se tomaron en el flujo de ingreso a la extrusora con un recipiente plástico cada 30 segundos hasta obtener aproximadamente 1 kg de semilla. Inmediatamente después las semillas se colocaron en doble bolsa plástica con cierre hermético, para evitar cambios de humedad con el ambiente, y se transportaron al laboratorio de Poscosecha de Granos de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

INTA Balcarce. Previo a su análisis se realizó una inspección visual para evaluar su grado sanitario (ausencia de insectos, hongos y/o semillas curadas). A continuación se realizó la limpieza de las muestras de poroto de soja eliminando granos dañados, negros y todo el material extraño que pueda afectar las determinaciones. Para ello se realizó la separación mediante la utilización de una zaranda patrón para separación de granos quebrados de maíz, con agujeros circulares de 4,76 mm de diámetro ($\pm 0,013$ mm), detección visual y remoción de partículas indeseadas. Finalmente, la muestra procesada fue colocada nuevamente en doble bolsa hermética y se almacenó en freezer (-18 °C) hasta el momento de análisis.

En el caso de las muestras de poroto de soja de las tres plantas de E-P ubicadas en la ciudad de Balcarce, se realizó un análisis de humedad de granos individuales el mismo día de muestreo. Esta determinación no se realizó en las muestras provenientes de lugares distantes ya que la humedad de los granos individuales tendería a uniformarse desde el momento del muestreo hasta el momento de recepción y procesamiento de las muestras.

La toma de muestras de expeller de soja se realizó en la salida de la prensa, es decir al finalizar el proceso de E-P del material. Para ello se realizó una recolección con un recipiente plástico cada 30 segundos hasta obtener la cantidad de muestra necesaria (5 kg aproximadamente). Las muestras se trasvasaron a bolsas plásticas resistentes, que se dejaron enfriar por unos minutos antes de cerrarlas, las cuales se transportaron inmediatamente al laboratorio de Poscosecha de Granos de la EEA INTA Balcarce, donde cada muestra se transfirió a doble bolsa hermética para su almacenamiento en freezer (-18 °C) hasta el momento de análisis.

Previo a su manipulación, se separaron de manera aséptica, cuatro muestras de aproximadamente 10 g cada una, para la realización de ensayos microbiológicos. Estas fueron colocadas en placas de Petri plásticas estériles rotuladas y se conservaron a 4 °C hasta el momento de análisis (dentro de los 7 días desde el muestreo).

Las muestras de expeller destinadas a determinaciones químicas se molieron mediante un molino KN 195 KnifetecTM (FOSS, Dinamarca) y se tamizaron con un tamiz (Zonytest) N° 25 (0,71 mm). La molienda y el tamizado se realizaron con el fin de obtener el tamaño de partícula necesario para el análisis, según lo establecido por la norma XIX para subproductos oleaginosos (SAGPyA, 1999).

4.3.2. Determinaciones en poroto de soja

4.3.2.1. Composición química

4.3.2.1.1. Contenido de humedad de grano individual

La determinación de la humedad individual de los granos se realizó mediante el método de estufa (grano expuesto a 103 °C durante 72 hs) de manera similar a la explicada para determinación de humedad en estufa (ASAE S352.2, 2003) de acuerdo con el método descrito por Azcona *et al.* (2009).

Inmediatamente después de obtener cada muestra se separaron al azar 20 granos, que visualmente presentaban todos sus componentes intactos, por triplicado. Cada grano se colocó en un tubo Eppendorf de 1,5 ml, el cual se cerró herméticamente para evitar que la humedad del grano varíe durante su manipuleo. Cada tubo se identificó con un número.

Los granos húmedos se pesaron en una balanza analítica (OHAUS, PioneerTM PA 214, EEUU) (0,0001 g) y se volvieron a colocar en los tubos. Luego, los tubos Eppendorf se colocaron abiertos en gradillas de polipropileno, y estas se pusieron en estufa a 103 °C. Luego de las 72 hs, se retiraron las gradillas, los tubos se cerraron inmediatamente y se los dejó enfriar a temperatura ambiente. A continuación se pesaron los granos secos en la misma balanza analítica y la

humedad de cada grano individual en base seca se calculó utilizando la ecuación 1.

$$CH(\% \text{ b.s.}) = (PH - PS) / PS \times 100$$

Ecuación 1

Donde: CH es el contenido de humedad del grano en porcentaje, PH es el peso húmedo del grano (peso inicial del grano (g)), y PS es el peso seco del grano (peso final del grano, luego del secado (g)).

4.3.2.1.2. Composición del poroto de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano

4.3.2.1.2.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad del poroto de soja se determinó además mediante espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS). Las muestras de poroto de soja fueron escaneadas mediante un monocromador de barrido (FOSS, NIRSystems 6500, Dinamarca), equipado con un módulo de transporte que se utilizó para medir los espectros de reflectancia comprendidos en el rango de 400 a 2500 nm, midiendo cada 8 nm, comprendiendo tanto el infrarrojo cercano como el espectro visible. Los valores de absorbancia fueron registrados como el $\log 1/R$, donde R es la reflectancia de la muestra. El análisis de la muestra de poroto de soja se llevó a cabo utilizando la copa grande, como se muestra en la Figura 5, ya que se trataba de un material heterogéneo. Para obtener los análisis cuantitativos de composición se utilizó el Software ISIScan nova 4.0 (Infrasoft International, Dinamarca). Para minimizar los errores de medición del equipo, el mismo permaneció en el laboratorio a una temperatura controlada entre 24 y 26 °C, sin exposición a la luz solar directa sobre el equipo.



Figura 5. Copa chica y grande utilizada para materiales homogéneos y heterogéneos respectivamente, para la determinación por NIRS

Para estimar el contenido de humedad del poroto de soja se utilizó una calibración desarrollada por el Laboratorio de Forrajes y Alimentos de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Anguil, cuyo error estándar de la validación cruzada (SECV) y coeficiente de determinación (R^2) en b.h. fueron 0,31% y 0,98, respectivamente.

4.3.2.1.2.2. Contenido de aceite y proteínas

El contenido de aceite y proteína del poroto de soja se determinó mediante NIRS (FOSS, NIRSystems 6500, Dinamarca) utilizando calibraciones desarrolladas por el Laboratorio de Forrajes y Alimentos de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Anguil. Para el caso del contenido de aceite el SECV y R^2 fueron 0,33% b.s. y 0,97, respectivamente. Para el caso del contenido de proteínas el SECV y R^2 fueron 0,60% b.s. y 0,95, respectivamente.

4.3.3. Determinaciones en expeller de soja

4.3.3.1. Caracterización física

4.3.3.1.1. Color

El color se midió con un colorímetro (Minolta, CR-300, EEUU) (Figura 6-A), utilizando un luminante C, la escala CieLab y el accesorio Minolta CR-450 (Figura 6-B), empleado para materiales granulares, con el fin de homogeneizar

tanto como sea posible la muestra para efectuar la medición. El dispositivo permite compactar una pequeña cantidad de muestra molida y tamizada. La medición se realizó a través de un cristal de cuarzo.



Figura 6: En la Figura A (izquierda) se observa el Colorímetro Minolta CR-300 utilizado para la determinación de color y en la Figura B (derecha) se observa el accesorio CR-450 para materiales granulares

4.3.3.1.2. Ángulo de reposo

La determinación del ángulo de reposo se realizó mediante un dispositivo construido especialmente para este fin (Figura 7), diseñado usando como referencia un instrumento para medir el ángulo de reposo de materiales con fragmentos gruesos (Van Burkalow, 1945). El dispositivo contiene una estructura metálica de 15x15x15 cm con una de sus paredes de vidrio y con la pared frontal desmontable (tipo guillotina), para poder deslizarla hacia arriba, como se muestra en la Figura 7-A. El recipiente se llenó con muestra de expeller de soja tal cual fue recibido y se enrasó con la tapa superior. Luego se retiró la pared frontal y el material se desplazó por fuera de la estructura. Posteriormente se midió con regla y transportador el ángulo de reposo estático, observado a través de la pared de vidrio como se muestra en la Figura 7-C.

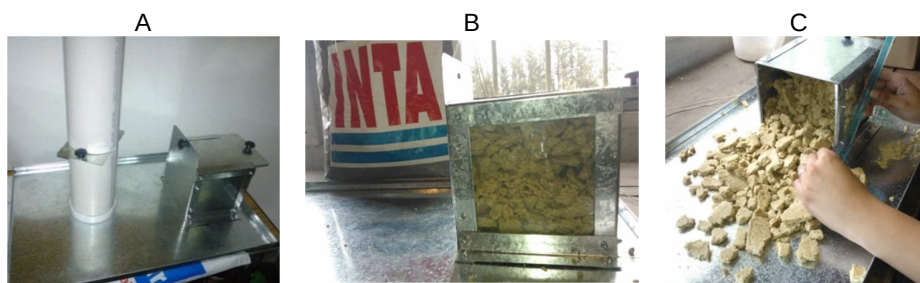


Figura 7: Instrumento de medición diseñado para medir el ángulo de reposo del expeller de soja (15x15x15 cm)

4.3.3.1.3. Densidad volumétrica

La densidad volumétrica o peso hectolítrico se define como la relación entre una determinada masa o peso de los granos y el volumen total que ocupa la masa de granos, incluyendo los espacios intersticiales. También se denomina densidad aparente. Para su determinación se utiliza un recipiente de volumen conocido el cual se llena de granos y se pesa. Luego la densidad volumétrica se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\rho = W/V$$

Ecuación 2

Donde: W es el peso de la masa de granos (kg) y V es el volumen ocupado (hl)

En el caso particular de granos de cereales (trigo, cebada, etc.) se utiliza la balanza de Schopper de acuerdo a lo que establece la norma XXVI (SAGyP, 1994). En el caso de los granos de oleaginosas, la norma de calidad no establece bases ni tolerancias, pero se utiliza la misma metodología que para los cereales. La balanza de Schopper consta de un recipiente de 250 ml de capacidad, una cuchilla para enrasar y una balanza para indicar el peso por hectolitro (se multiplica el peso obtenido, en kg, por 40).

La norma XIX (SAGPyA, 2004) establece que la determinación del peso hectolítrico se podrá realizar mediante el uso de la balanza de Schopper o similar que produzca resultados equivalentes. En tal sentido y dadas las limitaciones que ocasionaba el uso de la balanza de Schopper por el tamaño de las fracciones del expeller de soja (muy grandes), se diseñó un instrumento similar a la balanza de Schopper (Figura 8) pero con un tamaño adecuado para el tamaño de las fracciones del expeller de soja (100 mm de diámetro y 2000 ml de capacidad).



Figura 8: Instrumento de medición diseñado para medir la densidad volumétrica del expeller de soja donde se aprecia la comparación entre la balanza de Schopper y el instrumento diseñado

4.3.3.2. Caracterización química

4.3.3.2.1. Composición química

4.3.3.2.1.1. Composición del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano

El contenido de humedad, aceite residual, proteína, cenizas y fibra del expeller de soja se determinó mediante NIRS (FOSS, NIRSystems 6500, Dinamarca). Las muestras de expeller de soja previamente molidas y tamizadas fueron escaneadas utilizando la copa chica (Figura 5). Se utilizaron calibraciones desarrolladas por el Laboratorio de Forrajes y Alimentos de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Anguil para correlacionar los espectros con los valores composicionales. El SECV y R^2 para humedad fueron 0,31% b.h. y 0,97, respectivamente; para aceite residual 0,31% b.s. y 0,99, respectivamente; para proteínas 0,51% b.s. y 0,96, respectivamente; y para cenizas 0,2% b.s. y 0,73, respectivamente. El contenido de fibras del expeller de soja se determinó mediante otro equipo NIRS (FOSS, DS2500, Dinamarca) utilizando una calibración desarrollada por FOSS. El rango de medición fue en este caso de 400 a 2500 nm, midiendo cada 0,5 nm. El SECV y R^2 no fueron proporcionados en las calibraciones instaladas de fábrica.

4.3.3.2.1.2. Eficiencia de extracción de aceite

La eficiencia de extracción de aceite fue calculada a partir del contenido de aceite del poroto y del expeller de soja utilizando la siguiente expresión:

$$EfEx = (CA_p - CA_e) / CA_p \times 100$$

Ecuación 3

Donde: EfEx es la eficiencia de extracción de aceite (%), CA es el contenido de aceite (% b.s.), p es poroto y e expeller de soja

4.3.3.2.2. Parámetros de calidad

4.3.3.2.2.1. Índice de acidez

4.3.3.2.2.1.1. Curva de cinética de extracción de aceite residual en expeller de soja

Dado que no se conocía previamente el tiempo necesario para realizar la extracción de aceite por el método de Soxhlet, se realizó una curva de cinética de extracción, considerando diferentes tiempos y evaluando la eficiencia de extracción de aceite.

Para ello se realizó una extracción de aceite de una única muestra durante diferentes períodos de tiempo (1, 2, 3, 4, 5 y 6 hs de extracción). Cada tiempo de extracción se evaluó por triplicado. El procedimiento de extracción comenzó colocando 20 g de muestra molida y tamizada (con tamiz Zonytest N° 25 de 0,71 mm) en cartuchos de papel de filtro, tapados con algodón, y estos se colocaron dentro del extractor Soxhlet. Los extractores se colocaron en balones que fueron previamente pesados y colocados en un baño de agua a 80 °C. Seguidamente se colocaron dos medidas del solvente, cantidad suficiente para cubrir el cartucho y, dejando escurrir, rápidamente se colocó el refrigerante en la parte superior con circulación de agua fría. El procedimiento se realizó siempre bajo campana.

Al finalizar la extracción, el balón con el solvente y el aceite extraído se colocaron en un rota vapor (a 45 °C y bajo vacío) para recuperar el solvente utilizado. Posteriormente se pesó el balón con muestra para determinar por

diferencia de pesos la cantidad de aceite extraído. Para asegurar la eliminación de la totalidad del solvente se hizo burbujear N₂ gaseoso hasta peso constante.

A partir de los resultados obtenidos se graficó la curva de cinética de extracción y se determinó el tiempo de extracción óptimo para el expeller de soja. El contenido de aceite residual en el expeller se obtuvo de la siguiente manera:

$$CAe (\%) = (m2 - m1)/m \times 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

$$CAe (\% \text{ b.s.}) = CAe(\%) \times 100/(100 - CHe) \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde: CAe es el contenido de aceite residual en el expeller de soja, m es el peso de la muestra, m1 la tara del balón, m2 el peso del balón con aceite y CHe el contenido de humedad de la muestras de expeller (% b.s.).

Los resultados del contenido de aceite residual se expresaron como porcentaje en base seca. Se promediaron los valores obtenidos y se expresó el resultado con 1 decimal. La diferencia de los 2 resultados no debía ser superior al 2% del promedio.

4.3.3.2.2.1.2. Extracción de aceite

La extracción del aceite residual del expeller de soja se realizó mediante el método de Soxhlet, calibrado según lo explicado en el apartado anterior, considerando un tiempo de extracción de dos horas en baño María a 80 °C y utilizando n-hexano (p.a.) como solvente de extracción. Los restos de hexano del aceite extraído se eliminaron con un rotavapor a 45 °C y vacío. El aceite se conservó en frascos de color caramelo a 4 °C en atmósfera de nitrógeno hasta el momento de su utilización.

4.3.3.2.2.1.3. Determinación del índice de acidez del aceite

La determinación del índice de acidez se realizó mediante el método oficial (AOCS Ca 5a-40, 1997). Para ello se pesaron aproximadamente 5 g de aceite en un Erlenmeyer. Los restos de solvente que pudieran quedar en el aceite se eliminaron burbujando N₂ gaseoso sobre la muestra bajo campana, hasta alcanzar peso constante.

El aceite se disolvió en una mezcla 1:2 (v:v) de etanol:éter etílico (20 ml etanol y 40 ml éter etílico) y posteriormente se agregaron 4 - 5 gotas de fenolftaleína (0,1% en etanol:agua al 70:30). A continuación se comenzó la titulación con una solución estandarizada de NaOH. La concentración de la misma puede ser 0,1 o 0,01 N dependiendo de la acidez del aceite. La valoración del NaOH se realizó con biftalato de potasio. La titulación finalizó al observarse un cambio de color en la solución. En este caso la finalización estaba dada por la aparición de color pardo. Cada muestra se analizó por duplicado.

La acidez, expresada como mg de KOH/g de aceite, fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$Acidez = (Pe \times N \times V)/P$$

Ecuación 6

Donde: M es la peso equivalente del KOH (56,1 mg/meq), V representa los ml de solución de NaOH gastados durante la titulación, N es la normalidad de la solución de NaOH utilizado en meq/ml y P es el peso en gramos de la muestra, luego de eliminar los restos de solvente y alcanzar el peso constante.

4.3.3.2.2.2. Actividad ureásica

La determinación de la actividad ureásica se realizó según el método oficial AOCS Ba-9-58 (1997). Para ello fue necesario previamente preparar las siguientes soluciones:

- Solución buffer fosfato de potasio 0,05 M, pH 7,0: se preparó disolviendo 3,403 g de fosfato de potasio monobásico (p.a.) en aproximadamente 100 ml de agua destilada recientemente preparada, y por otro lado disolviendo aparte 4,355 g de fosfato de potasio bibásico (p.a.) en aproximadamente 100 ml de agua. Luego se mezclaron ambas soluciones y llevaron a un volumen final de 1000 ml con agua destilada. Si los reactivos son de grado analítico el pH de la solución debería ser 7,0, caso contrario se debe ajustar el pH a 7 exactamente con HCl o NaOH. La vida útil de esta solución es de 60 días.
- Solución buffer fosfato de potasio pH 7,0 + urea: se preparó disolviendo 15 g de urea (p.a.) en 500 ml de solución buffer de fosfato preparada, y el pH se ajustó a 7,0.

A ambas soluciones se le agregó 5 ml de tolueno para prevenir la formación de hongos.

Una vez preparadas las soluciones se colocaron 0,200 g de muestra molida en un tubo de ensayo de 50 ml provisto con tapón de goma y luego se agregaron 10 ml de solución buffer de urea. El tubo se tapó, mezcló y colocó en un baño de agua a 30 °C.

Se preparó además un blanco, pesando 0,20 g de muestra molida en un tubo de ensayo igual al anterior y se agregaron 10 ml de solución buffer de fosfato. También se tapó, mezcló y colocó en baño de agua a 30 °C. Entre la preparación de la muestra y el blanco para poder efectuar las mediciones se dejó un intervalo de tiempo de 5 minutos. En ambos casos el contenido de cada tubo se agitó a intervalos de 5 minutos.

Una vez transcurridos 30 minutos en baño a 30 °C se sacaron el tubo con la muestra y el blanco, manteniendo el intervalo de 5 minutos para efectuar la medición. El líquido sobrenadante del tubo se transfirió a un vaso de 5 ml donde se efectuó la medición de pH del líquido luego de transcurridos exactamente 5 minutos después de haberlo retirado del baño.

El pH se determinó con un pH-metro equipado con electrodo de vidrio y calomel, capaz de trabajar con 5 ml de solución (con compensador de temperatura y una sensibilidad de al menos 0,01 unidades de pH o mejor). El pH-metro se calibró previamente con buffer estándar de valores cercanos al rango dentro del cual se hizo la determinación (pH 4, 7 y 11).

La actividad ureásica se obtuvo como la diferencia de pH expresada al centésimo entre la muestra y el blanco. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, y se controló que las diferencias entre los valores parciales no fueran mayores de 0,05 unidades de pH.

4.3.3.2.2.3. Solubilidad proteica en hidróxido de potasio

La solubilidad de la proteína bruta en KOH se determinó mediante NIRS (FOSS, NIRSystems 6500, Dinamarca) utilizando una calibración desarrollada por el Laboratorio de Forrajes y Alimentos de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Anguil. El rango de medición fue de 400 a 2500 nm,

midiendo cada 2 nm. El SECV y R^2 obtenidos en la calibración para la solubilidad en KOH fueron 2,8% b.s. y 0,90, respectivamente.

4.3.3.3. Caracterización microbiológica

4.3.3.3.1. Determinación de unidades formadoras de colonias

La carga microbiana (hongos filamentosos y levaduras) del expeller de soja se determinó mediante el método de recuento de dilución seriada al décimo y siembra en placas de Petri utilizando agar papa dextrosa (Britania®, Argentina) como medio de cultivo, con la adición del antibiótico cloranfenicol (Anedra®, Argentina) al 0,1%. Se preparó una solución de siembra donde 10 g de cada sub-muestra (cuatro en total) se transfirieron a frascos estériles con 90 ml de solución de peptona de caseína (0,1%) (Britania®, Argentina), conformando una concentración de 10^{-1} . Los frascos se agitaron durante 15 minutos en un agitador orbital y luego de cada uno de ellos se tomaron dos alícuotas de 100 μ l que fueron inoculadas en superficie en placas de Petri. Las placas se incubaron en una estufa de cultivo a 28 °C durante 5 días (Pitt y Hocking, 2009). Los recuentos de la biota fúngica se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de materia seca de expeller de soja (UFC/g de MS).

4.3.3.3.2. Identificación y frecuencias de aislamiento

Se identificaron a nivel de género y especie, las colonias que mostraron características morfológicas diferentes (diámetro de colonia, color, pigmentos, exudados, etc.), utilizando las claves taxonómicas de Pitt y Hocking (2009) y Samson *et al.* (2004). Todos los aislamientos identificados se encuentran en la colección de cultivos de la EEA INTA Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Se determinó la frecuencia de aislamiento de los géneros y especies caracterizadas a partir de las colonias desarrolladas en el medio de cultivo de recuento. Para ello, se consideró el número de muestras de expeller de soja en las que el género/especie estuvo presente en cada muestra en relación con el número total de muestras analizadas.

4.3.3.3. Micotoxinas

Del total de las muestras analizadas en este estudio, 24 pares de muestras de poroto y expeller de soja, molidas y tamizadas (aproximadamente 500 g) se almacenaron en freezer (-18 °C) hasta que se enviaron para ser analizadas en el Instituto de Tecnología de Alimentos del INTA Castelar.

La determinación en cada una de las muestras se realizó de la siguiente manera: en primer lugar, 10 g de muestra se suspendieron en acetonitrilo, agua y ácido acético (79:20:1) y se les realizó un Salting-Out con 2 g de NaCl. Las muestras se homogeneizaron durante 3 min con Ultra-Turrax, se sonicaron durante 60 minutos y finalmente se centrifugaron durante 5 min a 3000 rpm. Un volumen de 10ml del extracto se transfirió a viales de vidrio y se evaporaron a 45°C bajo una inyección de N₂. Las muestras fueron resuspendidas en 2 ml de acetonitrilo:agua (70:30). Luego se diluyeron con 28 ml de agua ultrapura y se purificaron con un cartucho SPE C18 (Strata C18-E, 55um, 70A, 500 mg / 6 ml, Phenomenex). El cartucho se lavó con 2 ml de metanol:agua (1:99) y se eluyó con 1 ml de metanol:agua (70:30). Finalmente, se filtraron a través de una membrana de PVDF de 0,2 µm y se inyectaron en el cromatógrafo.

Se utilizó para el análisis un cromatógrafo que combina la cromatografía de líquidos con la espectrometría de masas (LTQ-XL Linear Ion Trap Thermo, San José, CA, EEUU) utilizando el estándar sigma 34134. Tanto en poroto como en expeller de soja se evaluaron varias micotoxinas, entre ellas fumonisinas B₁ (FB₁) y B₂ (FB₂), aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) y G₂ (AFG₂), nivalenol, 3 acetil DON, 15 acetil DON, ocratoxina A y zearalenona.

4.3.4. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizó estadística descriptiva (media, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV)) para caracterizar la composición y calidad del poroto y del expeller de soja. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de composición y de calidad del poroto y del expeller de soja, con la finalidad de establecer posibles asociaciones lineales (p<0,05).

Además se ajustaron modelos de regresión lineal simple o múltiple para caracterizar la relación entre parámetros de composición y calidad del expeller y del poroto de soja. Con la finalidad de comparar todos los subconjuntos posibles de modelos con tres predictores (contenido de humedad, de aceite y de proteína del poroto de soja), se utilizó el R^2 ajustado, el estadístico Cp de Mallow y, principalmente, los criterios de información de Akaike (AIC) y bayesiano (BIC), analizándose, también, la significancia de los predictores. Se verificaron los supuestos para todos los modelos seleccionados. Los análisis se realizaron con el programa estadístico R (R Core Team, 2018. Versión 3.5.1).

Previo al análisis de los resultados obtenidos en la caracterización de la microbiota presente, se realizó una normalización de los datos y para ello a los valores de UFC/g de MS se les sumó una constante (uno) y luego se aplicó el logaritmo en base 10, obteniendo entonces una variable respuesta transformada. Se ajustaron modelos lineales y se realizaron comparaciones múltiples de medias para los recuentos (Log_{10} UFC/g de MS) y el contenido de humedad (% b.s.) para cada planta de E-P mediante el software estadístico RStudio (versión 0.99.903) (R Core Team, 2018), utilizando el paquete "emmeans" de "R" ($p < 0,05$).

4.4. RESULTADOS

4.4.1. Determinaciones en poroto de soja

La composición química del poroto de soja es generalmente variable como se mencionó anteriormente. En el Anexo I se muestran los resultados completos de la composición del poroto de soja medida por NIRS mientras que en la Tabla 2 se muestran los valores promedios de composición del poroto de soja, los desvíos y los coeficientes de variación obtenidos para cada una de las plantas de E-P estudiadas. En promedio el poroto presenta un $11,9 \pm 1,78\%$ (b.s.) de humedad, $37,7 \pm 2,2\%$ (b.s.) de proteína y $20,1 \pm 1,28\%$ (b.s.) de aceite.

Tabla 2. Composición del poroto de soja por medio de NIRS para cada una de las plantas de E-P evaluadas

Planta de E-P		CHp (% b.s.)	CPp (% b.s.)	CAP (% b.s.)
1 (n=7)	Promedio	12,5	38,5	20,1
	SD	0,74	0,55	0,20
	CV %	5,9	1,4	1,0
2 (n=5)	Promedio	14,0	37,8	21,6
	SD	0,98	1,05	0,92
	CV %	7,0	2,8	4,3
3 (n=3)	Promedio	13,0	37,6	20,0
	SD	0,12	0,32	0,04
	CV %	0,9	0,8	0,2
4 (n=3)	Promedio	12,0	39,0	20,3
	SD	2,72	1,58	0,21
	CV %	22,7	4,1	1,0
5 (n=3)	Promedio	11,9	40,2	19,3
	SD	0,79	0,08	0,20
	CV %	6,6	0,2	1,0
6 (n=3)	Promedio	10,5	38,6	21,8
	SD	1,02	0,90	1,03
	CV %	9,7	2,3	4,7
7 (n=3)	Promedio	8,5	40,9	20,3
	SD	0,62	0,43	0,37
	CV %	7,3	1,1	1,8
8 (n=3)	Promedio	11,5	38,3	21,6
	SD	0,17	0,58	0,28
	CV %	1,5	1,5	1,3
9 (n=3)	Promedio	13,0	33,6	18,6
	SD	2,55	0,84	0,88
	CV %	19,6	2,5	4,7

10 (n=3)	Promedio	11,5	34,7	18,1
	SD	0,14	0,06	0,36
	CV %	1,2	0,2	2,0
11 (n=4)	Promedio	10,9	34,7	18,8
	SD	1,63	0,70	0,65
	CV %	14,9	2,0	3,5
Todas (n=40)	Promedio	11,9	37,7	20,1
	SD	1,78	2,22	1,28
	CV %	14,9	5,9	6,4

Nota: CH es contenido de humedad, CP es contenido de proteína, CA es contenido de aceite, p es poroto de soja, n es el número de muestras, SD es el desvío estándar y CV es el coeficiente de variación

Los resultados de humedad de granos individuales de las 10 muestras analizadas se muestran en la Tabla 3. Se puede apreciar que el 80% de las muestras analizadas presentan una humedad promedio entre 11,3 y 12,7%. A su vez, estas muestras presentaron diferente variabilidad en la humedad de granos individuales, por ejemplo la muestra 5 y particularmente la 6 son las que mayor dispersión de humedad presentaron, lo que también puede apreciarse en la distribución de frecuencias mostrada en la Figura 9.

Tabla 3. Valores promedios, desvío estándar y coeficiente de variación de la humedad de los granos individuales de soja provenientes de 10 muestras recolectadas de distintas plantas de E-P

Muestra	CH de granos individuales (% b.s.)	CV (%)
1	14,9 ± 0,84	5,6
2	12,7 ± 0,84	6,6
3	12,4 ± 0,77	6,3
4	12,1 ± 0,81	6,7
5	11,8 ± 0,94	8,0
6	11,7 ± 1,49	12,7
7	11,5 ± 0,70	6,1
8	11,4 ± 0,33	2,8
9	11,3 ± 0,63	5,6
10	10,5 ± 0,56	5,4

Nota: CH es el contenido de humedad y CV es el coeficiente de variación. Se muestran los valores promedios seguidos de ± el desvío estándar

En líneas generales las muestras analizadas tuvieron en promedio un contenido de humedad de granos individuales de $12,0 \pm 1,41\%$ b.s., con una variabilidad de 11,71% y con un rango de 9,2 a 16,5% b.s.

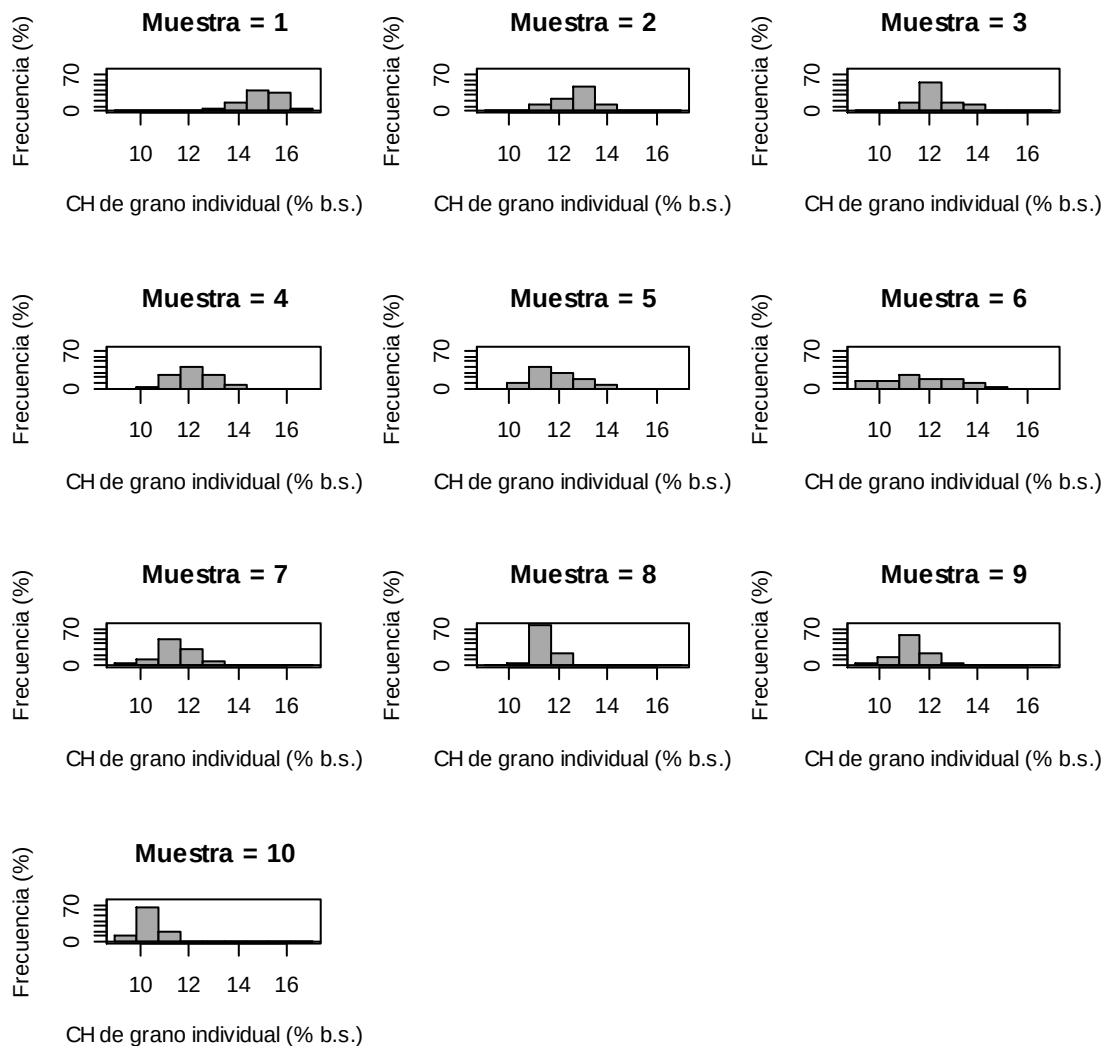


Figura 9. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual, determinado para cada una de las muestras analizadas

4.4.2. Determinaciones en expeller de soja

En la Tabla 4 se muestran los valores promedios de las características físicas, en la Tabla 5 se muestra la composición química y la eficiencia de extracción de aceite y en la Tabla 6 los parámetros de calidad (acidez, actividad ureásica y solubilidad en NaOH) del expeller de soja obtenido de once plantas de E-P. Estas propiedades se evaluaron con la finalidad de caracterizar el expeller de soja de diferentes plantas y evaluar la variabilidad que existe entre plantas de

E-P en diferentes momentos de producción. Los datos completos se presentan en los Anexos II y III.

Las siglas Cie L*a*b* se refieren al espacio de color tridimensional, en donde L* es luminosidad de negro (0) a blanco (100), a* va de rojo (+a) a verde (-a) y b* es la gradiente del amarillo (+b) al azul (-b). La caracterización del color del expeller indica que en promedio los valores de L*, a* y b* fueron de 78,4, -2,6 y 25,4. A su vez, el CV fue mayor para el parámetro a* (30,2%), seguido por el b* (14,0%) y finalmente el L* (3,6%). Por su parte, el ángulo de reposo promedio fue de 45,5°, con un mínimo de 41,5° y un máximo de 52,3° (CV de 16,7%). El peso hectolítrico promedio medido con el instrumento adaptado en todas las plantas fue de 43,5 kg/hl, con un mínimo de 36,1 y un máximo de 48,7 (CV de 9,5%) (Tabla 4). Se decidió presentar el peso hectolítrico adaptado en la Tabla 4 debido a que el tamaño del cilindro de la balanza de Schopper era muy pequeño para ciertos tipos de expellers que salen de la prensa con un tamaño muy grande y por lo tanto el instrumento adaptado era el más adecuado para efectuar la determinación en este tipo de productos. Sin embargo en el Anexo III se presentan los resultados obtenidos para ambos instrumentos de medición.

Tabla 4. Características físicas del expeller de soja para cada una de las plantas de E-P evaluadas

Planta de E-P		Características físicas				
		Color			Ángulo de reposo (°)	PH adaptado (kg/hl)
		L	a*	b*		
1 (n=7)	Promedio	-	-	-	44,3	45,0
	SD	-	-	-	7,87	1,72
	CV %	-	-	-	17,8	3,8
2 (n=5)	Promedio	77,8	-2,4	25,5	47,2	44,1
	SD	3,35	0,39	2,02	8,50	0,65
	CV %	4,3	16,7	7,9	18,0	1,5
3 (n=3)	Promedio	74,6	-1,6	29,7	52,3	48,7
	SD	0,49	0,08	0,47	0,58	0,30
	CV %	0,7	5,1	1,6	1,1	0,6
4 (n=3)	Promedio	76,6	-4,2	31,7	42,7	38,4
	SD	2,29	0,71	2,53	3,21	5,61
	CV %	3,0	16,8	8,0	7,5	14,6

5 (n=3)	Promedio	-	-	-	42,0	36,1
	SD	-	-	-	1,00	0,60
	CV %	-	-	-	2,4	1,7
6 (n=3)	Promedio	81,5	-2,6	22,0	41,7	46,1
	SD	0,11	0,14	0,52	2,52	1,37
	CV %	0,1	5,5	2,4	6,0	3,0
7 (n=3)	Promedio	82,6	-2,3	21,1	46,3	44,5
	SD	0,75	0,16	0,40	15,82	9,98
	CV %	0,9	7,0	1,9	34,1	22,4
8 (n=0)	Promedio	-	-	-	-	-
	SD	-	-	-	-	-
	CV %	-	-	-	-	-
9 (n=3)	Promedio	77,7	-3,2	26,3	44,0	45,3
	SD	1,42	0,09	2,01	10,44	2,10
	CV %	1,8	2,8	7,6	23,7	4,6
10 (n=3)	Promedio	78,7	-2,3	24,3	-	-
	SD	0,38	0,15	0,59	-	-
	CV %	0,5	6,4	2,4	-	-
11 (n=4)	Promedio	78,4	-2,4	23,4	48,3	43,6
	SD	1,36	0,59	0,90	7,89	4,68
	CV %	1,7	24,2	3,9	16,4	10,7
Todas (n=34)	Promedio	78,4	-2,6	25,4	45,5	43,5
	SD	2,82	0,78	3,55	7,61	4,13
	CV %	3,6	30,2	14,0	16,7	9,5

Nota: PH es el peso hectolítrico adaptado, n es el número de muestras, SD es el desvío estándar y CV es el coeficiente de variación

El contenido de humedad promedio del expeller a través de todas las plantas evaluadas fue de 7,2%, aunque mostró una gran dispersión, con un mínimo de 4,4% y un máximo de 12%. El promedio de proteína de todas las muestras fue de 43,8% (39,4 – 48,0%), aceite de 8,8% (5,5 - 15,5%), cenizas 6,2% (5,7 - 6,8%) y fibras 5,4% (4,2 - 6,9%). La mayoría de estos componentes mostraron un CV relativamente bajo, con excepción del aceite, que presentó un CV de 29,6%. Por su parte, la eficiencia de extracción del proceso a través de todas las plantas arrojó un promedio de 56,0%, con un mínimo de 23,0% y un máximo de 73,2%, lo cual también genera un CV de 23,8% (Tabla 5).

Tabla 5. Composición del expeller de soja medida por NIRS para cada una de las plantas de E-P evaluadas

Planta de E-P		Composición química						EfEx (%)
		NIRS						
		CHe (% b.s.)	MSe (%)	CPe (% b.s.)	CAe (% b.s.)	Cenizas (% b.s.)	Fibra (% b.s.)	
1 (n=7)	Promedio	6,2	94,2	42,5	8,9	5,9	5,5	55,7
	SD	0,48	0,42	1,01	0,86	0,08	0,29	4,41
	CV %	7,7	0,4	2,4	9,6	1,4	5,4	7,9
2 (n=5)	Promedio	12,0	89,3	43,6	9,3	6,6	5,0	56,9
	SD	2,17	1,74	0,50	0,65	0,30	0,89	4,63
	CV %	18,2	2,0	1,2	7,0	4,6	17,6	8,1
3 (n=3)	Promedio	7,2	93,3	39,5	15,4	6,1	5,3	23,0
	SD	0,06	0,05	0,11	0,07	0,00	0,10	0,19
	CV %	0,8	0,1	0,3	0,5	0,1	1,9	0,8
4 (n=3)	Promedio	7,4	93,1	42,0	11,7	5,9	5,6	42,4
	SD	1,34	1,16	1,86	3,00	0,19	0,73	15,28
	CV %	18,1	1,2	4,4	25,7	3,2	13,0	36,0
5 (n=3)	Promedio	10,7	90,4	45,3	8,8	6,2	4,7	54,2
	SD	1,72	1,42	0,17	0,72	0,11	0,39	3,99
	CV %	16,1	1,6	0,4	8,2	1,8	8,3	7,4
6 (n=3)	Promedio	5,3	95,0	43,8	7,2	6,1	6,6	67,1
	SD	0,59	0,53	1,33	0,91	0,12	0,38	2,66
	CV %	11,1	0,6	3,0	12,7	1,9	5,8	4,0
7 (n=3)	Promedio	4,9	95,3	47,8	6,2	6,4	6,2	69,7
	SD	0,30	0,27	0,27	0,23	0,09	0,42	0,83
	CV %	6,0	0,3	0,6	3,7	1,4	6,8	1,2
8 (n=3)	Promedio	6,7	93,7	44,7	5,8	6,3		73,2
	SD	0,20	0,18	1,12	0,47	0,09		2,54
	CV %	3,1	0,2	2,5	8,2	1,3		3,5
9 (n=3)	Promedio	6,1	94,3	44,7	8,3	6,2	5,1	54,7
	SD	2,04	1,80	1,29	2,30	0,15	0,27	14,43
	CV %	33,6	1,9	2,9	27,6	2,5	5,4	26,4
10 (n=3)	Promedio	6,9	93,6	45,7	7,3	6,2	4,6	59,8
	SD	0,07	0,06	0,16	0,08	0,04	0,10	0,41
	CV %	1,0	0,1	0,4	1,1	0,6	2,3	0,7
11 (n=4)	Promedio	4,4	95,7	43,7	7,8	6,2	6,1	58,6
	SD	0,48	0,44	1,48	0,58	0,19	0,66	2,69
	CV %	10,8	0,5	3,4	7,4	3,0	10,8	4,6
Todas (n=40)	Promedio	7,2	93,4	43,8	8,8	6,2	5,4	56,0
	SD	2,57	2,18	2,13	2,61	0,26	0,74	13,31
	CV %	36,0	2,3	4,9	29,6	4,1	13,6	23,8

Nota: CH es contenido de humedad, MS es el contenido de materia seca, CP es contenido de proteína, CA es contenido de aceite, e es expeller de soja, EfEx es la eficiencia de extracción, n es el número de muestras, SD es el desvío estándar y CV es el coeficiente de variación. La suma de MSe y CHe no suman 100% porque la MSe esta expresada en b.h. y el resto de los componentes, incluyendo el CHe, en b.s.

La acidez promedio de las muestras fue de 2,7 mg KOH/g aceite (1,8 - 3,8 mg KOH/g aceite), el promedio de la actividad ureásica fue de 0,1 u pH (0 u pH - 0,6 u pH) y la solubilidad en KOH de 78,7% (65,2 - 84,7%). De todos los indicadores de calidad la actividad ureásica fue el que mayor CV presentó (152,7%), seguido por acidez (20,5%) y solubilidad en KOH (5,1%) (Tabla 6). Particularmente para la actividad ureásica el CV (%) quizás no sea una buena forma de comparar la variabilidad de las muestras debido a que los valores de los SD son mayores que los promedios, razón por la cual el valor del CV da tan elevado.

Tabla 6. Parámetros de calidad determinados para expeller de soja para todas las muestras analizadas de diferentes plantas de E-P

Planta de E-P	Parámetros de calidad			
		Acidez (mg de KOH/g aceite)	Actividad ureásica (u pH)	Solubilidad en KOH (%)
1 (n=7)	Promedio	3,0	0,0	82,7
	SD	0,30	0,02	1,74
	CV %	9,9	72,2	2,1
2 (n=5)	Promedio	3,0	0,2	78,7
	SD	0,97	0,11	3,38
	CV %	32,7	52,0	4,3
3 (n=3)	Promedio	2,6	0,5	75,5
	SD	0,09	0,02	0,76
	CV %	3,3	4,4	1,0
4 (n=3)	Promedio	3,0	0,1	76,1
	SD	0,84	0,06	1,36
	CV %	28,2	81,9	1,8
5 (n=3)	Promedio	2,6	0,0	80,1
	SD	0,35	0,01	2,95
	CV %	13,5	100,0	3,7
6 (n=3)	Promedio	2,4	0,0	76,5
	SD	0,46	0,01	1,13
	CV %	19,0	173,2	1,5
7 (n=3)	Promedio	0,3	0,3	78,0
	SD	0,21	0,32	2,96
	CV %	77,6	119,6	3,8
8 (n=3)	Promedio	-	0,0	77,1
	SD	-	0,00	0,93
	CV %	-	10,8	1,2
9 (n=3)	Promedio	2,6	0,0	79,1
	SD	0,28	0,02	2,25
	CV %	11,1	62,4	2,8
10 (n=3)	Promedio	2,0	0,0	83,3
	SD	0,11	0,01	1,63
	CV %	5,4	173,2	2,0
11 (n=4)	Promedio	2,8	0,2	74,5
	SD	0,38	0,24	7,86
	CV %	13,8	128,7	10,5
Todas (n=40)	Promedio	2,7	0,1	78,7
	SD	0,55	0,18	4,04
	CV %	20,5	152,7	5,1

Nota: n es el número de muestras, SD es el desvío estándar, CV es el coeficiente de variación y u pH es unidades de pH

4.4.3. Correlaciones entre las variables de composición y calidad del poroto y del expeller de soja

En la Tabla 7 se muestran varias relaciones entre los diferentes parámetros de composición y de calidad del poroto y del expeller de soja. En el presente estudio se tuvieron en consideración aquellas correlaciones que fueron significativas ($p < 0,05$) y con un coeficiente de Pearson (r) mayor a 0,4, de acuerdo al criterio adoptado, en un trabajo similar, por García-Rebollar *et al.* (2016). El contenido de humedad del poroto de soja se correlacionó positivamente con el contenido de aceite del expeller de soja (0,752), y negativamente con la materia seca del expeller de soja (-0,507), el contenido de proteína del expeller de soja (-0,609) y con la eficiencia de extracción de aceite (-0,685). El contenido de aceite del poroto de soja se correlacionó negativamente con el contenido de proteína del poroto de soja (-0,540) y positivamente con la eficiencia de extracción de aceite (0,441). El contenido de proteína del poroto de soja se correlacionó positivamente con el contenido de proteína del expeller de soja (0,655). La materia seca del expeller de soja se correlacionó negativamente con el contenido de aceite residual del expeller de soja (-0,585) y positivamente con la eficiencia de extracción (0,509). El contenido de proteína del expeller de soja resultó negativamente correlacionado con el contenido de aceite residual del expeller (-0,620) y con la acidez (-0,411), mientras que positivamente correlacionado con la eficiencia de extracción de aceite (0,580). Finalmente, el contenido de aceite residual del expeller se correlacionó negativamente con la eficiencia de extracción de aceite (-0,974), lo cual era esperable ya que la eficiencia de extracción depende del contenido de aceite residual.

Tabla 7. Coeficientes de correlación de Pearson para parámetros de composición y calidad del poroto y del expeller de soja

	CHp	CAP	CPp	MSe	CPe	CAe	EfEx	KOH	AU	Acidez
CHp	1									
CAP	0,021 ^{NS}	1								
CPp	-0,359 [*]	-0,540 ^{***}	1							
MSe	-0,507 [*]	-0,080 ^{NS}	-0,004 ^{NS}	1						
CPe	-0,609 ^{***}	0,021 ^{NS}	0,655 ^{***}	0,194 ^{NS}	1					
CAe	0,752 ^{***}	-0,228 ^{NS}	-0,233 ^{NS}	-0,585 ^{***}	-0,620 ^{***}	1				
EfEx	-0,685 ^{***}	0,441 ^{**}	0,096 ^{NS}	0,509 ^{**}	0,580 ^{***}	-0,974 ^{***}	1			
KOH	0,317 ⁺	0,086 ^{NS}	-0,044 ^{NS}	0,020 ^{NS}	-0,186 ^{NS}	0,188 ^{NS}	-0,154 ^{NS}	1		
AU	0,045 ^{NS}	0,111 ^{NS}	0,065 ^{NS}	-0,307 [*]	0,219 ^{NS}	0,047 ^{NS}	-0,005 ^{NS}	-0,056 ^{NS}	1	
Acidez	0,285 ^{NS}	-0,297 ^{NS}	-0,192 ^{NS}	-0,287 ^{NS}	-0,411 [*]	-0,271 ^{NS}	-0,325 [*]	-0,247 ^{NS}	0,073 ^{NS}	1

Nota: Niveles de significancia: NS: no significativo; +: p<0,1; *: p<0,01; **: p<0,001; ***: p<0,0001. CHp, CAP y CPp son el contenido de humedad, aceite y proteínas del poroto de soja, MSe, CPe, y CAe son la materia seca, el contenido de proteínas y de aceite del expeller de soja, EfEx es la eficiencia de extracción, KOH es la solubilidad proteica en hidróxido de potasio y AU es la actividad ureásica

4.4.4. Caracterización microbiológica

4.4.4.1. Recuentos de unidades formadoras de colonias

En la Figura 10 se muestran los promedios, desvíos y medianas de las UFC transformadas a Log10 de UFC/g de MS para las muestras de expeller provenientes de las diferentes plantas de E-P. En general, se obtuvieron bajos recuentos en las plantas de E-P evaluadas, en el orden de las 0,63 UFC/g de MS. Las medias estuvieron por debajo de 0,3 Log10 de UFC/g de MS y las medianas por debajo de los 0,125 Log10 de UFC/g de MS, con la excepción de las plantas 5, 8 y 9 que presentaron medianas entre 0,125 y 0,25 Log10 de UFC/g de MS.

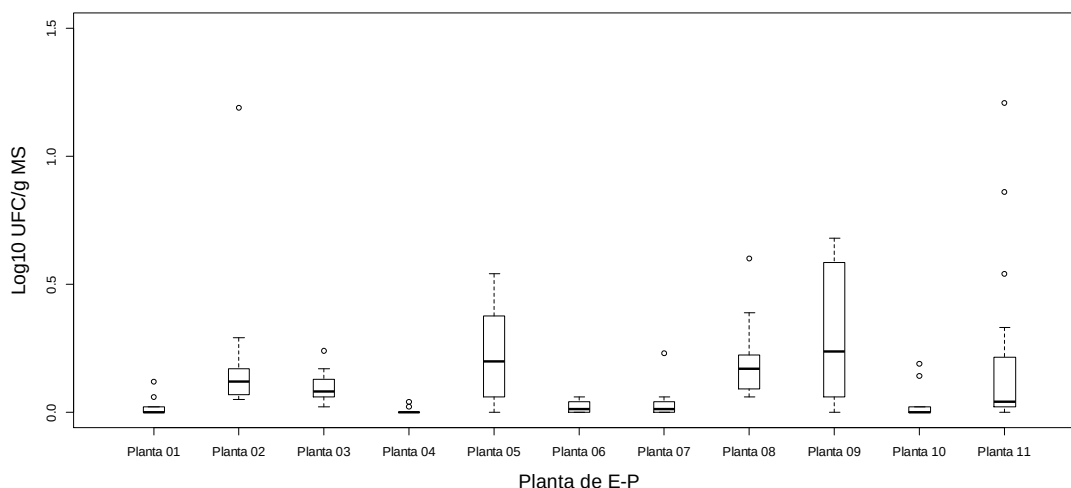


Figura 10. Recuento de hongos filamentosos y levaduras (Log10 UFC/g de MS) determinados en muestras de expeller de soja para cada una de las plantas de E-P evaluadas

La Tabla 8 presenta el análisis de las medias para los recuentos expresados como Log10 de UFC/g de MS y el contenido de humedad (% b.s.) para cada planta de E-P. Se puede apreciar que no hay una correspondencia clara entre contenido de humedad de las muestras y los recuentos, aun comparando las muestras en los extremos de humedad. Esto probablemente se debe a que el proceso de E-P reduce substancialmente la carga fúngica, independientemente del contenido de humedad de la muestra. Las plantas evaluadas presentan diversidad geográfica y de tecnología de equipamiento (tipos de extrusor y prensa). Además, las condiciones de procesamiento no fueron registradas en su totalidad y no se establecieron condiciones controladas de procesamiento, por lo que no se pueden hacer inferencias respecto de estas variables sobre los recuentos.

Tabla 8. Contenido de humedad y recuento de hongos y levaduras para el expeller de cada una de las plantas de E-P donde se realizaron los muestreos

Planta	CHe (% b.s.)	Log10 UFC/g de MS
2	12,0 ± 1,99 ^a	0,2 ± 0,25 ^{ab}
5	10,7 ± 1,47 ^b	0,2 ± 0,18 ^{ab}
4	7,4 ± 1,14 ^c	0,0 ± 0,01 ^b
3	7,2 ± 0,05 ^c	0,1 ± 0,06 ^{ab}
10	6,9 ± 0,06 ^c	0,0 ± 0,06 ^b
8	6,7 ± 0,17 ^{cd}	0,2 ± 0,16 ^{ab}
1	6,4 ± 0,51 ^{cd}	0,0 ± 0,04 ^b
9	6,1 ± 1,74 ^{cde}	0,3 ± 0,27 ^a
6	5,3 ± 0,50 ^{def}	0,0 ± 0,02 ^b
7	4,9 ± 0,25 ^{ef}	0,0 ± 0,06 ^b
11	4,4 ± 0,43 ^f	0,2 ± 0,36 ^{ab}

Nota: CHe es el contenido de humedad del expeller expresado en base seca, Log10 UFC/g de MS es el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por gramo de materia seca. Se muestran los valores promedios seguidos de ± el desvío estándar. Valores promedios con letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.4.4.2. Frecuencias de aislamientos e identificación de géneros/especies

La población de hongos encontrada en las muestras de expeller de soja estuvo constituida por especies pertenecientes a 6 géneros de hongos filamentosos de las clases superiores y uno de clase inferior. Ellos fueron: *Zygomycetes*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* sp. y *Cladosporium* sp. También se identificaron *Fusarium* sp., *Eurotium* sp. y *Acremonium* sp. En general, *Penicillium* y *Zygomycetes* fueron los que se encontraron con mayor frecuencia (28,0 y 25,6%, respectivamente), seguidos por *Aspergillus* (15,5%) y *Cladosporium* (14,3%). El resto de los hongos se observaron con una frecuencia menor al 10% (Tabla 9). Las levaduras totales, tuvieron una frecuencia de aislamiento promedio de 11,9%.

Tabla 9. Composición y frecuencias de aislamiento de géneros de las poblaciones de hongos asociadas con el expeller de soja producido en diferentes zonas productivas de Argentina

Género	Total de muestras analizadas	Muestreos positivos	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Penicillium</i> spp.	168	47	28,0
<i>Alternaria</i> sp.	168	5	3,0
<i>Aspergillus</i> sp.	168	26	15,5
<i>Eurotium</i> sp.	168	15	8,9
<i>Zygomycetes</i> (Clase)	168	43	25,6
<i>Cladosporium</i> sp.	168	24	14,3
<i>Acremonium</i> sp.	168	10	6,0
<i>Fusarium</i> sp.	168	1	0,6
Hongos no identificados	168	16	9,5
Levaduras totales	168	20	11,9

Dentro de las muestras analizadas se identificaron algunas especies de los géneros considerados indeseables por ser considerados potenciales productores de micotoxinas. En el caso de *Aspergillus* se identificaron *A. flavus* y *A. niger*, mientras que para *Fusarium* se identificó *F. verticilloides*.

En la Tabla 10 se muestran los recuentos para los tres géneros de hongos micotoxigénicos más importantes discriminados por plantas analizadas. En líneas generales se observó que *Penicillium* fue el género predominante en la mayoría de las plantas (con excepción de la Planta 4), y no se aisló en 2 plantas (Plantas 4 y 10). El género *Aspergillus* se aisló en 7 plantas, mientras que *Fusarium* sólo se aisló en la Planta 5.

Tabla 10. Hongos micotoxigénicos encontrados en expeller de soja de cada una de las plantas de E-P evaluadas

Planta	<i>Penicillium</i> sp.	FA <i>Penicillium</i> (%)	<i>Aspergillus</i> sp.	FA <i>Aspergillus</i> (%)	<i>Fusarium</i> sp.	FA <i>Fusarium</i> (%)	Muestras totales
1	8	66,7	8	66,7	0	0,0	12
2	8	40,0	2	10,0	0	0,0	20
3	5	41,7	5	41,7	0	0,0	12
4	0	0,0	2	8,3	0	0,0	24
5	7	29,2	7	29,2	1	4,2	24
6	3	25,0	1	8,3	0	0,0	12
7	1	8,3	0	0,0	0	0,0	12
8	3	25,0	0	0,0	0	0,0	12
9	6	50,0	1	8,3	0	0,0	12
10	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12
11	6	37,5	0	0,0	0	0,0	16

Nota: FA es frecuencia de aislamiento

4.4.4.3. Micotoxinas en poroto y expeller de soja

Los resultados de los análisis de las micotoxinas presentes en poroto y en expeller de soja se presentan de manera sintética en la Tabla 11, mientras que los resultados completos se muestran en los Anexos IV y V. Las micotoxinas nivalenol, ocratoxina A y zearalenona no fueron detectadas en las muestras de poroto y expeller de soja analizadas.

DON se detectó en el 100% de las muestras analizadas de poroto de soja, con una concentración promedio de 1271,5 µg/kg, mientras que FB₁ y FB₂ se detectaron en el 4,2% de las muestras con concentraciones de 38,4 µg/kg y 10,0 µg/kg, respectivamente. Por otro lado, no se detectaron aflatoxinas en ninguna de las muestras de poroto analizadas.

En el caso del expeller de soja se detectó DON pero en una menor frecuencia comparado con poroto de soja (29,2% de las muestras) y en una menor concentración (312 µg/kg). Por el contrario, FB₁ y FB₂ se detectaron con mayor frecuencia (29,2%) y en mayor concentración (209,5 µg/kg y 60,6 µg/kg para FB₁ y FB₂, respectivamente) que en las muestras de poroto. Por su parte, en expeller se detectaron AG₁ y AG₂ en el 41,7% de las muestras, pero en baja concentración (0,4 y 0,3 µg/kg, respectivamente). En la mayoría de los casos el SD de las concentraciones de micotoxinas en expeller fue alta (por encima de

las 107 µg/kg y hasta 608 µg/kg), con excepción de las aflatoxinas detectadas en expeller de soja.

Tabla 11. Micotoxinas analizadas en poroto y expeller de soja provenientes de diferentes plantas de E-P

Producto		DON	FB₁	FB₂	AFB₁	AFB₂	AFG₁	AFG₂
Poroto de soja (n=24)	Promedio (µg/kg)	1271,5	38,4	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	SD	467,96	187,88	48,85	0,00	0,00	0,00	0,00
	Frecuencia (%)	100,0	4,2	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
Expeller de soja (n=24)	Promedio (µg/kg)	312,1	209,5	60,6	0,0	0,0	0,4	0,3
	SD	607,97	337,99	106,95	0,00	0,00	0,75	0,50
	Frecuencia (%)	29,2	29,2	29,2	0,0	0,0	41,7	41,7

Nota: n es el número de muestras analizadas, SD es el desvío estándar, DON es Deoxinivalenol, FB₁ y FB₂ son las fumonisinas B₁ y B₂, y AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ son las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, respectivamente. Se muestran los valores promedios

4.5. DISCUSIÓN

4.5.1. Composición y variabilidad del poroto de soja

En general, la composición del poroto de soja (37,7% de proteína y 20,1% de aceite) fue similar a lo reportado por Juan *et al.* (2015) y por Cuniberti y Herrero (2018) para variedades de soja sembradas en Argentina. En particular, Cuniberti y Herrero (2018) indicaron que la composición promedio para los últimos 21 años fue 38,2% de proteína y 22,9% de aceite, observando una caída en el contenido de proteína en forma sistemática año tras año (a razón de 5 g/kg por año), mientras que el aceite se mantiene en niveles altos.

La variabilidad en la composición del poroto de soja en este estudio (CV de 5,9 y 6,4% para proteína y aceite, respectivamente) fue algo mayor en proteína y ligeramente menor en aceite que lo presentado por Juan *et al.* (2015) (CV 3,6 y 7,6% para proteína y aceite, respectivamente). Por otro lado, Grieshop *et al.* (2003) informaron valores de composición de la soja recolectada de diferentes plantas de procesamiento de EEUU, presentando un mayor contenido de proteína (41,2%) y menor contenido de aceite (18,6%) que en este estudio. En términos de variabilidad, la soja de EEUU tuvo un CV similar para aceite (5,6%) pero sustancialmente menor (0,8%) para proteína que la soja procedente de Argentina.

La composición química promedio del expeller de soja obtenido de diferentes plantas de E-P de Argentina analizado en este trabajo (7,2% de humedad b.s., 43,8% de proteína b.s., 8,8% de aceite residual b.s. y 6,2% de cenizas b.s.) (Tabla 5) fue similar a lo informado por Juan *et al.* (2015) (7,3% de humedad b.s., 43,5% de proteína b.s., 8,5% de aceite residual b.s. y 6,1% de cenizas b.s.). El contenido de proteína del expeller de soja promedio obtenido en este estudio es inferior al límite mínimo (44,5% b.s.) que establece la norma XIX (SAGPyA, 1999) como base para la comercialización de este subproducto. Esto también fue observado por Juan *et al.* (2015) y podría estar asociado a la tendencia a la baja en el contenido de proteínas en la materia prima, como se mencionó en anteriormente.

Una alternativa en la conformación de dietas sería substituir el expeller por harina desgrasada de soja. En comparación con el expeller, las harinas tienen mayor contenido de proteína (51,0 - 54,0%), menor contenido de aceite (1,9 - 4,0%) y menor materia seca (88 - 89%) (Lusas y Rhee, 1995; Woerfel, 1995). García-Rebollar *et al.* (2016) y Karr-Lilienthal *et al.* (2004) reportaron que harinas de soja procedentes de Argentina tuvieron menores contenidos de proteína que aquellas provenientes de EEUU, Brasil e India, y adjudicaron el menor contenido de proteína en la harina al menor contenido de proteína de la materia prima (poroto de soja). En el mismo sentido podría especularse que el expeller de soja producido en EEUU, Brasil u otro país resulte con mayor contenido proteico que el expeller producido en Argentina. Una confirmación de esta especulación la ofrece el trabajo de Karr-Lilienthal *et al.* (2006), quienes reportaron valores de proteína en el expeller de soja, obtenidos en plantas de E-P de EEUU, substancialmente superiores a los que se presentan en este trabajo (entre 45,1 y 52,6% b.s.). Sin embargo, la diferencia tan marcada puede deberse a que, además de la diferencia en composición de la materia prima, los granos de soja procesados fueron previamente descascarados, mientras que las plantas procesadoras argentinas generalmente utilizan granos enteros.

El contenido de aceite residual del expeller de soja es la fracción de aceite que queda remanente en el producto luego de la extracción por medio del proceso de E-P. El valor promedio obtenido en este estudio es inferior al límite máximo (10,3% b.s.) que establece la norma XIX (SAGPyA, 1999) para este subproducto. Sin embargo, como se puede ver en la Tabla 5, la planta 3 presenta en promedio un contenido de aceite muy superior al permitido por la norma (15,5% b.s.) y a los contenidos reportados en estudios previos (Gallardo, 2011; Juan *et al.*, 2015).

Cuando el expeller presenta niveles de aceite residual superiores a lo establecido por la norma XIX (SAGPyA, 1999), es posible que se perciban descuentos en el precio o incluso que la mercadería sea rechazada. Un alto nivel de aceite residual aumenta la susceptibilidad al enranciamiento (oxidación de la materia grasa), lo cual produce sabores y olores indeseables, que finalmente causan el rechazo por parte de los animales que lo consumen (Gallardo, 2011).

Como se ha mencionado anteriormente, el expeller de soja se caracteriza por presentar una composición muy variable, en parte debido a la variabilidad en la composición del poroto y en parte al procesamiento. Esta variabilidad en la composición del expeller podría generar problemas para la comercialización (expeller de soja con humedades muy diferentes, por ejemplo) y para la formulación de dietas para animales (demandando realizar ajustes frecuentes en la proporción de los constituyentes).

En este trabajo el contenido de humedad, proteína, aceite residual y cenizas del expeller de soja tuvieron un CV de 36,0; 4,9; 29,6 y 4,1%, respectivamente (Tabla 5). En contraste, Karr-Lilienthal *et al.* (2006) informaron una variabilidad muy inferior en la composición del expeller obtenido de plantas de E-P de EEUU (6,4; 1,8 y 6,6% para humedad, proteína y aceite residual, respectivamente). Estas diferencias podrían deberse a las condiciones climáticas, tipo de suelo, etc. que existen en las diferentes zonas productivas de Argentina donde se lleva a cabo la producción de soja. El poroto de soja producido en Argentina tiene un nivel de aceite más alto y un nivel de proteína más bajo en comparación con la soja producida en EEUU, cuya producción es notablemente más estable. Dado que la soja producida en Argentina tiene un contenido de proteína más bajo, el expeller producido también tendrá un contenido de proteína menor. Además el equipamiento utilizado en las plantas de E-P en Argentina no está estandarizado con lo cual se sumaría una fuente de variación adicional. En el mismo sentido, García-Rebollar *et al.* (2016) y Grieshop *et al.* (2003) informaron una variabilidad sustancialmente menor en la composición de harinas de soja obtenido a partir de materias primas de diferentes orígenes (CV de 0,2 a 0,7, 0,5 a 1,3% y 2,6 a 19,3% para humedad, proteína y aceite residual, respectivamente). Esto implicaría que la conformación de la dieta utilizando harinas desgrasadas de soja sería menos problemática que con expeller de soja debido a la menor variabilidad composicional que presentan las harinas.

4.5.1.1. Eficiencia de extracción de aceite de expeller de soja

Como se muestra en la Tabla 5, la eficiencia de extracción de aceite fue en promedio 56,0% (rango de 22,8% a 74,7%). Este valor fue más bajo de lo

esperado de acuerdo con la literatura consultada (alrededor del 70% para las extracciones por E-P en condiciones estandarizadas) (Bargale *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 1987), implicando que, en la mayoría de las plantas relevadas, hay algún factor que está limitando la extracción de aceite. Algunas de las variables independientes críticas que pueden afectar el proceso de extrusado son la temperatura, la humedad de la materia prima y la velocidad del tornillo de la extrusora (Aguilera y Kosikowski, 1976). Floyd *et al.* (1979) informaron que las propiedades viscoelásticas del poroto de soja se vieron afectadas en menor medida por la temperatura y en mayor medida por el contenido de humedad. En la misma línea, Chen *et al.* (2010) concluyeron que un mayor contenido de humedad del poroto de ingreso dio como resultado una menor viscosidad y una menor relación de conversión de energía mecánica en energía térmica durante el proceso de extrusión. Por otro lado, Nelson *et al.* (1987) indicaron que por encima de 135 °C, el expeller de soja asume un estado fluido que facilita la extracción de aceite durante el proceso de extrusado. Por lo tanto, se podría hipotetizar que a medida que aumenta la humedad de la soja, los cambios en las propiedades viscoelásticas que se producen durante el proceso de extrusión no permitirían alcanzar altas temperaturas y, en consecuencia, se limitaría la extracción de aceite.

De acuerdo a las correlaciones de la Tabla 7, se evaluaron diferentes modelos de predicción para establecer el efecto de la composición del poroto en la calidad del expeller de soja producido. La Ecuación 7 modela la eficiencia de extracción en función del contenido de humedad y del contenido de aceite del poroto de soja. Además, dado que el contenido de humedad del poroto de soja afectó la eficiencia de extracción, también afectó la composición final del expeller de soja, como podemos ver en la Ecuación 8. Por otro lado, la Ecuación 9 muestra el modelo de predicción para establecer el efecto de la composición del poroto de soja en el contenido de proteínas final del expeller.

$$EfEx = 24,5884 - 3,2169 \times CH_p + 3,5871 \times CA_p \quad \text{Ecuación 7}$$

$$(R^2 = 0,6765; p = 8,202 \times 10^{-9})$$

$$CA_e = 7,7535 + 0,6693 \times CH_p - 0,3670 \times CA_p \quad \text{Ecuación 8}$$

$$(R^2 = 0,6257; p = 9,101 \times 10^{-8})$$

$$CP_e = -12,1811 - 0,3261 \times CH_p + 1,1581 \times CP_p + 0,7248 \times CA_p \quad \text{Ecuación 9}$$

$$(R^2 = 0,7229; p = 4,784 \times 10^{-7})$$

Donde: EfEx es la eficiencia de extracción de aceite (%), CAP y CAe son el contenido de aceite del poroto y del expeller de soja (% b.s.) respectivamente, CPp y CPe son el contenido de proteína del poroto y del expeller de soja (% b.s.) respectivamente, CHp es el contenido de humedad del poroto de soja (% b.s.).

La Figura 11 muestra la eficiencia de extracción de aceite, el contenido de proteínas y de aceite del expeller de soja en función del contenido de humedad del poroto de soja utilizando los modelos de predicción planteados en las Ecuaciones 7 a 9. Aquí se puede observar que a medida que la humedad del poroto de soja disminuye (humedad al ingreso de la extrusora), la eficiencia de extracción de aceite aumenta, con la consecuente reducción en el contenido de aceite residual del expeller de soja y un aumento en el contenido de proteína del expeller. Por ejemplo, si el procesamiento de poroto de soja (20,7% de aceite y 39,1% de proteína) se lleva a cabo con un contenido de humedad cercano a la humedad de comercialización establecida en Argentina (13,5% b.h. o 15,6% b.s.) da como resultado una eficiencia de extracción de alrededor del 48,7%. Por otro lado, si la humedad del poroto fuera menor a la humedad de comercialización (ej. 12,4% b.s.), la eficiencia de extracción aumentaría a 58,9% y el expeller de soja resultaría con un menor contenido de aceite residual (1,9 puntos porcentuales menos) y un contenido de proteínas más alto (1 punto porcentual más).

La mayoría de las plantas de E-P generalmente compran soja con una humedad elevada, cercana a la humedad de comercialización mencionado anteriormente (15,6% b.s.), por lo tanto, contar con sistemas de secado para reducir el contenido de humedad del poroto de soja antes del procesamiento es de gran importancia para este tipo de plantas. El 80% de las PyMEs de E-P localizadas en Córdoba y Santa Fe cuentan en la actualidad con sistemas de secado previo al procesamiento (Juan *et al.*, 2015). Realizar un tratamiento de secado previo permite aumentar la eficiencia de extracción de aceite y la cantidad de proteína en el expeller, ayudando en el aumento del rendimiento

económico de este tipo de procesos y a producir expeller de soja con un mayor valor nutricional.

Además del contenido de humedad con el que el poroto de soja ingresa a la extrusora, el tipo de extrusora y las condiciones en que se lleva a cabo el procesamiento también pueden afectar la composición y calidad final del expeller de soja (por ejemplo, afectando el índice de dispersabilidad de proteínas) (Crowe *et al.*, 2001).

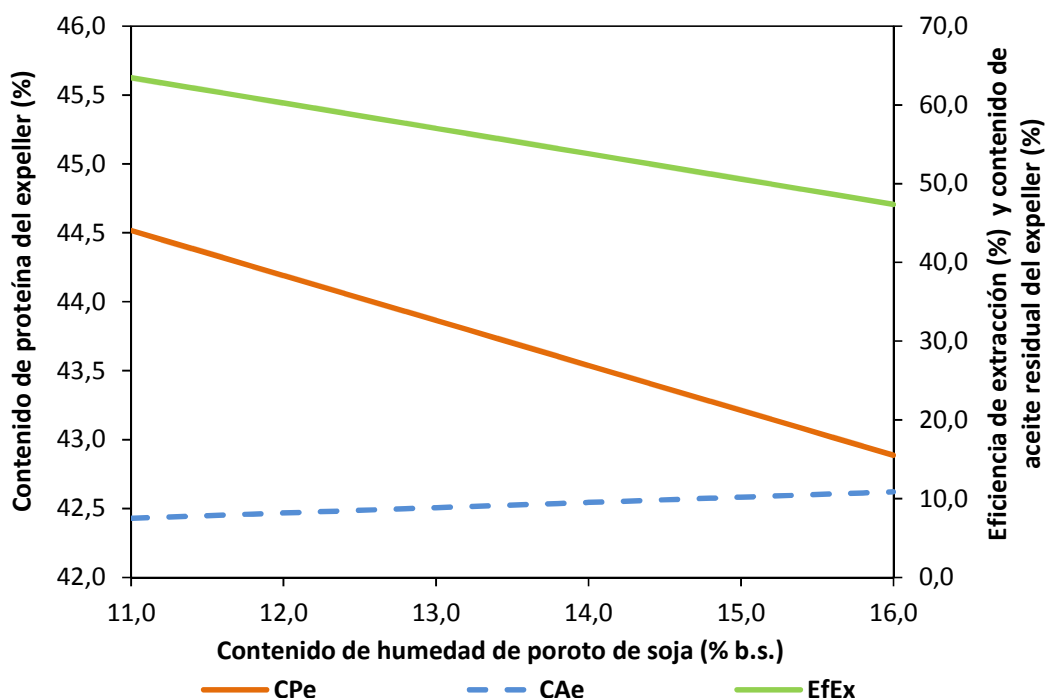


Figura 11. Efecto del contenido de humedad del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite (EfEx), y en los contenidos de proteína (CPe) y de aceite (CAe) del expeller de soja

4.5.1.2. Indicadores de calidad del aceite y proteína de soja

La presencia de ácidos grasos libres en el aceite crudo es un indicador de que hubo lipólisis producto de la acción de enzimas o de la temperatura. Si la acidez de un producto es muy elevada hay una mayor predisposición o susceptibilidad a la oxidación, y por ende a la formación de compuestos volátiles responsables de la rancidez. La acidez generalmente se determina en el aceite extraído, y el valor de referencia es 4,0 mg KOH/g de aceite, para

productos obtenidos por prensado en frío y aceite virgen (FAO, 1999). Los valores de acidez que se obtuvieron en este trabajo fueron inferiores a lo que establece la FAO como límite sugerido, lo que implica que las muestras de aceite residual en el expeller no presentaron problemas de rancidez (Tabla 6).

Los factores antinutricionales más importantes presentes en el poroto de soja son los inhibidores de la tripsina, que pueden eliminarse casi por completo mediante un tratamiento térmico relativamente intenso, como lo es el proceso de E-P (Smit *et al.*, 2018). La actividad ureásica se utiliza ampliamente como un indicador indirecto de la desactivación de los factores antinutricionales por medio de un tratamiento con temperatura. Un tratamiento térmico insuficiente representa una preocupación en los sistemas de alimentación animal, ya que el consumo de expeller de soja no desactivado causa en algunos casos graves problemas nutricionales en la producción de aves de corral y cerdos (Woyengo *et al.*, 2017; Zhang y Parsons, 1993). Esto indica que el tratamiento térmico realizado durante el proceso de E-P adquiere una importancia crítica.

La actividad ureásica obtenida del análisis de todas las muestras de expeller de soja fue en promedio de 0,1 unidades de pH. Dicho valor se encuentra por debajo del valor máximo permitido por la reglamentación vigente en Argentina que es de 0,20 unidades de pH (SAGPyA, 1999) (Tabla 6). Sin embargo, en 4 de 36 muestras analizadas (11%) la actividad ureásica determinada estaba por encima del límite crítico. Esto implica que en algunas condiciones de procesamiento por medio de E-P no se logró la inactivación de los factores antinutricionales. García-Rebollar *et al.* (2016) informaron valores entre 0,01 y 0,02 unidades de pH para la actividad ureásica en muestras de harina de soja. Estos valores fueron sustancialmente más bajos que los reportados en este estudio para expeller de soja (0,18 unidades de pH), lo que implica que en general el tratamiento térmico realizado en el proceso de obtención de harinas de soja fue más apropiado (alcanzó una temperatura más alta) para inactivar los inhibidores de tripsina que el tratamiento térmico del proceso de E-P para la obtención de expeller. La única correlación significativa que se encontró para la actividad ureásica, aunque débil ($r=-0,307$ y $p<0,01$) fue con la materia seca del expeller (Tabla 7). Esto implicaría que cuanto mayor es la humedad del poroto

de soja, más difícil podría resultar alcanzar la temperatura de inactivación en el expeller de soja.

Por otro lado, una temperatura excesiva durante el proceso E-P de la soja puede producir desnaturalización/agregación de las proteínas y, en condiciones extremas, producir la alteración de los aminoácidos que las constituyen. Cuando esto ocurre, la funcionalidad de la proteína (evaluada a través de distintas técnicas como el índice de dispersabilidad de proteína, la solubilidad proteica en KOH, la capacidad de retención de agua, la capacidad emulsificante, etc.) se ve afectada y, en condiciones más extremas aún, incluso la digestibilidad de la proteína puede verse afectada (Papadopoulos, 1989).

Los tratamientos térmicos llevados a cabo durante el proceso E-P generalmente producen una pérdida de solubilidad de proteínas en KOH por debajo de los valores razonables (debajo de 85%) como sugieren Araba y Dale (1990b) que puede deberse a la formación de agregados con enlaces covalentes, como lo demuestra Sobral *et al.* (2012) en harinas tostadas. En este contexto, Ingrassia *et al.* (2017) mostraron que la agregación de proteínas mediada por interacciones covalentes como resultado de reacciones de tipo Maillard induce una pérdida de solubilidad proteica en KOH. En estas uniones covalentes interviene la lisina, por lo tanto, cuando la solubilidad proteica en KOH es baja hay mayor pérdida de lisina biodisponible, generando un disminución en el valor nutricional de la proteína. En consecuencia, la solubilidad de proteínas en KOH se usa como un indicador de sub y sobre calentamiento para harinas y expeller de soja (Wang y Johnson, 2001). En tal sentido, Araba y Dale (1990b, 1990a) propusieron utilizar la solubilidad de la proteína como un indicador de sub y sobre procesamiento de harinas de soja, estableciendo que valores superiores al 85% e inferiores al 70% indican sub o sobre procesamiento, respectivamente.

En este estudio, la solubilidad de las proteínas en KOH fue 78,7%, lo que sugiere un procesamiento apropiado, ligeramente inferior al reportado para harinas de soja (81,2 - 86,1%) por García-Rebollar *et al.* (2016). La única relación significativa que se encontró para la solubilidad de proteínas en KOH, aunque también débil ($r=0,317$ y $p<0,1$), fue con el contenido de humedad del poroto de soja (Tabla 7). Esto podría sugerir que a medida que aumenta el

contenido de humedad del poroto de soja, la solubilidad de las proteínas en KOH presentes en el expeller de soja también aumenta, como resultado de alcanzar una menor temperatura durante el proceso de E-P debido a la mayor humedad presente en el poroto de soja.

4.5.1.3. Contenido de humedad de grano individual

Se ha establecido que el contenido de humedad del poroto de soja afecta la extracción de aceite en el proceso de E-P (Ecuación 7). Menos conocido es el efecto de la variabilidad de la humedad de los granos individuales en el proceso de E-P. La humedad de granos individuales de soja tuvo una distribución monomodal, con un CV que va del 2,8 al 12,7%, dentro del rango informado por Cardoso *et al.* (2007) (CV del 10%). Al analizar particularmente la Figura 9 se puede apreciar que algunas muestras presentan poca dispersión de humedad (muestras 8, 9 y 10), mientras que otras muestras resultaron con una gran dispersión en cuanto a la humedad de los granos individuales (muestras 5 y 6).

En función de los resultados que se han obtenido en este trabajo y los reportados por Cardoso *et al.* (2007), se puede apreciar que en principio la humedad de cosecha del material, el tiempo transcurrido desde la misma hasta su procesamiento o la realización de un acondicionamiento de la humedad por medio de un tratamiento de secado, son las principales causas que afectan la homogeneidad en la humedad de los granos individuales. A su vez, si los granos luego de los tratamientos mencionados son almacenados, la humedad de los mismos tiende a equilibrarse y por lo tanto la humedad con la que se procesa el material almacenado tiende a ser más homogénea.

La Figura 12 muestra la relación entre la humedad del grano individual y la eficiencia de extracción de aceite de tres muestras con contenido de humedad promedio similar (alrededor de 10,2 - 10,8% b.h.), pero con diferente variabilidad en el contenido de humedad de los granos individuales. Se puede apreciar que a medida que aumenta la variabilidad en el contenido de humedad, la eficiencia de extracción de aceite disminuye. Este efecto podría deberse a que la humedad afecta las propiedades viscoelásticas de los granos individuales y, en consecuencia, afecta la energía requerida y el rendimiento

general del proceso de extrusión (Floyd *et al.*, 1979). Sin embargo, es importante señalar que en este trabajo no se realizó un estudio específico como para obtener una correlación estadísticamente significativa entre la humedad de grano individual y la eficiencia de extracción de aceite del proceso de E-P, y que hay otras variables que pueden afectar el proceso de extrusado (Crowe *et al.*, 2001).

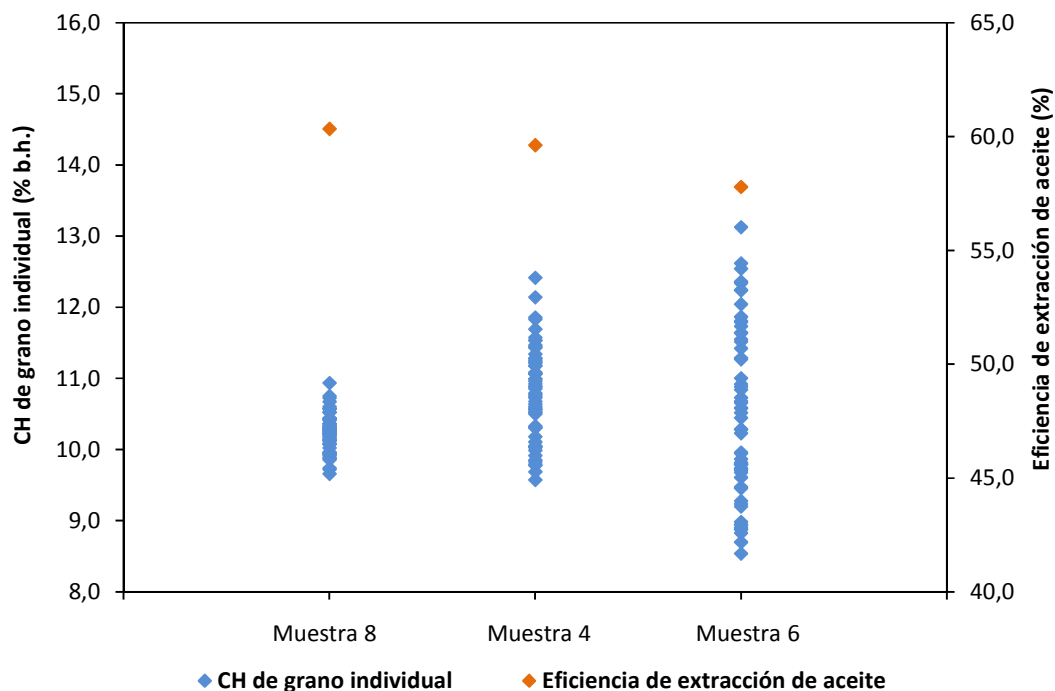


Figura 12. Variabilidad del contenido de humedad de grano individual de tres muestras (baja, intermedia y alta variabilidad) de poroto de soja y eficiencia de extracción de aceite por E-P. Nota: CH es contenido de humedad

La determinación del contenido de humedad del grano individual no es una práctica habitual en las plantas procesadoras de expeller, ya que requiere equipamiento específico, capacitación y tiempo. Conocer las principales fuentes de variabilidad de la humedad de granos individuales y cómo se puede prevenir podría servir de insumo para reducir la variabilidad encontrada en la materia prima (poroto de soja) y por lo tanto, quizás también mejorar el rendimiento del proceso de E-P. El secado artificial es una fuente importante de variabilidad para el contenido de humedad del grano individual, especialmente cuando el secado se realiza a altas temperaturas (Liu *et al.*, 1997). Por esa razón, reducir la temperatura de secado podría ayudar a reducir la variabilidad

de la humedad. Otra recomendación sería almacenar el producto durante algunos días luego del secado, con el propósito de que la humedad del material se homogeneice antes de su procesamiento (Cardoso *et al.*, 2007). Por otro lado, los sistemas de secado en silo con aire natural o baja temperatura han demostrado producir muy baja variabilidad en la humedad de los granos individuales (de la Torre *et al.*, 2011), siendo este el motivo por el cual estos sistemas de secado son los más utilizados en la industria de procesamiento de maíz pisingallo (Bartosik *et al.*, 2009). Finalmente, resulta conveniente evitar realizar mezclas de lotes de soja con diferentes humedades (por ejemplo, mezclar lotes de grano con 9 y 14% de humedad en b.s. para conformar un lote de procesamiento con alrededor de 12% de humedad en b.s.).

4.5.1.4. Características físicas del expeller de soja

En la Tabla 4 se presentaron los valores promedio y desvíos para cada uno de los parámetros que constituyen el color. El parámetro a^* es el que presenta el mayor CV (30,2%) mientras que la luminosidad, o parámetro L^* , fue el menos variable (3,6%). Sin embargo se puede apreciar que en general la luminosidad disminuye con el aumento de la temperatura de procesamiento, asociándose con un mayor pardeamiento. Por otro lado también se observa una tendencia del parámetro b^* de aumentar con la temperatura, como se muestra en la Figura 13. Sin embargo, en todos los casos los R^2 son muy bajos, con lo cual no se puede establecer relaciones fehacientes entre los parámetros de color y la temperatura del proceso.

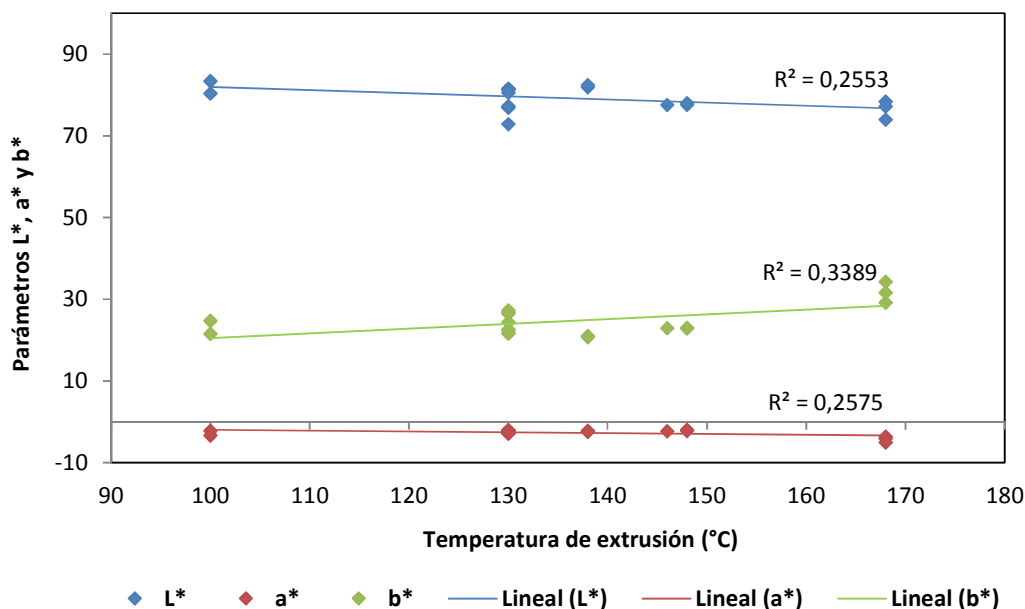


Figura 13. Efecto de la temperatura de extrusión en los parámetros L*a*b* del color para expeller de soja obtenido de diferentes plantas de E-P

Se sabe que a mayor humedad del grano mayor es el ángulo de reposo (Dutta *et al.*, 1988; Gupta y Das, 1997; Ordóñez *et al.*, 2012; Vilche *et al.*, 2003). De manera similar, la densidad volumétrica de los granos disminuye con el contenido de humedad (Brooker *et al.*, 1992). Contrariamente a lo esperado, el ángulo de reposo y la densidad volumétrica del expeller de soja no fueron afectados por el nivel de humedad, posiblemente debido a que el efecto de la gran heterogeneidad en tamaño y grosor que presenta este tipo de material es substancialmente mayor que el efecto del contenido de humedad.

El conocimiento del ángulo de reposo y el peso hectolítrico del expeller permite refinar el diseño de sistemas de almacenamiento, carga y descarga de este material, en particular en lo relacionado a su forma de deslizamiento y acomodamiento (empaquetamiento).

4.5.1.5. Calidad y variabilidad intra-planta del expeller de soja

La Figura 14 muestra los valores promedios y SD para el contenido de humedad del poroto de soja y para el contenido de aceite residual en el expeller de soja de las muestras recolectadas durante tres días diferentes de procesamiento por E-P en diez de las once plantas evaluadas. En esta figura

se aprecia claramente que cuando hay una importante variabilidad en la humedad del poroto de soja dentro de una misma planta, también hay una importante variabilidad en el contenido de aceite residual del expeller (ej. plantas 4 y 9). Esto indica que los fabricantes de alimentos balanceados podrían tener dificultades para conformar dietas uniformes, incluso usando expeller de soja proveniente de una misma planta de procesamiento, especialmente si esa planta no cuenta con un procedimiento confiable para controlar la humedad del poroto de soja antes del procesamiento. Por otra parte, la variabilidad en la humedad de procesamiento de soja intra-planta indica la falta de conocimiento respecto del efecto de la humedad sobre el desempeño del extrusor y sus consecuencias en la calidad y composición del expeller obtenido.

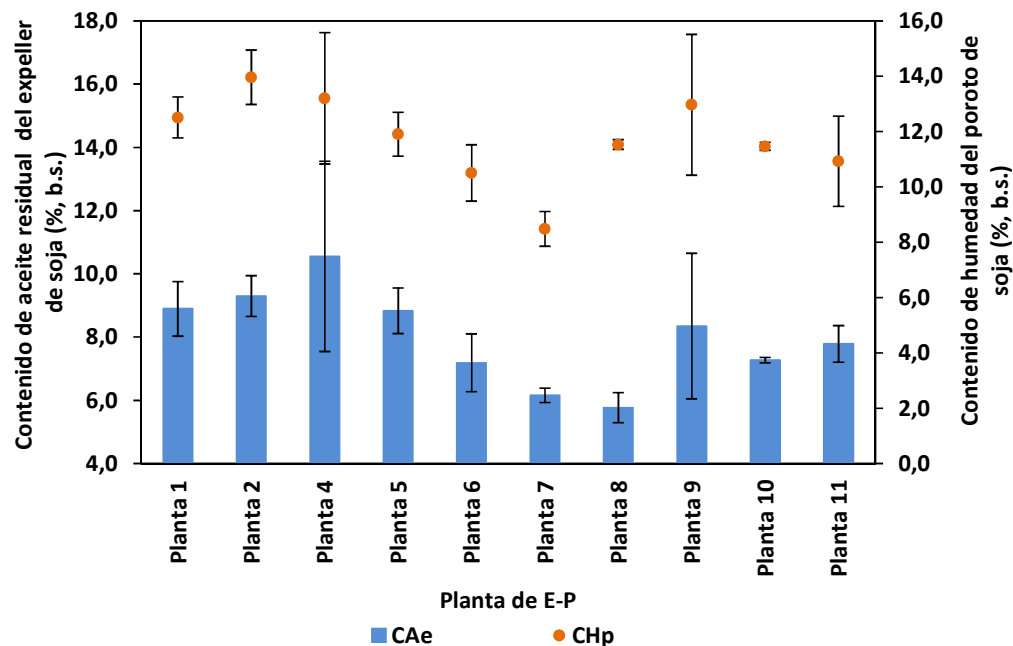


Figura 14. Valores promedio del contenido de aceite residual del expeller de soja (CAe) y de contenido de humedad del poroto de soja (CHp) de muestras recolectadas de diferentes plantas de E-P. Las barras de error indican la desviación estándar

4.5.2. Caracterización microbiológica

4.5.2.1. Recuento de unidades formadoras de colonias

Hasta el momento no existen normativas que establezcan límites máximos de carga fúngica para expeller de soja, pero si para otro subproducto como la harina de soja. Según la normativa de buenas prácticas de manufactura (por sus siglas en inglés, GMP14), la carga fúngica no debe exceder, en ningún momento del procesamiento, las 10^4 UFC/g de MS (Barros *et al.*, 2010). Si se comparan con estos valores los obtenidos tanto para poroto como para expeller de soja vemos que fueron muy inferiores. Dichos resultados se encontraron dentro del mismo rango que reportó Ochandio (2014) (entre 0 y 7 UFC/g de MS) para poroto de soja.

Se sabe que los diferentes productos tienen diferentes tasas de respiración y esto se debe principalmente a las diferencias en composición de la matriz en estudio. Según Ochandio (2014) la composición de la soja o algún aspecto relacionado a la cubierta seminal podría condicionar la actividad biológica en comparación con los cereales. Esto se puede confirmar con la tasa de respiración relativamente baja reportada por Ochandio *et al.* (2017) respecto a la tasa de respiración del maíz bajo condiciones similares (Marcos Valle, 2015).

La soja presenta una relación carbohidratos/proteínas diferente a otras matrices caracterizadas donde predominan las fuentes carbonadas fácilmente disponibles, y por lo tanto, influye la colonización y multiplicación de hongos filamentosos. Se sabe que las matrices con alto contenido de proteína/aceite (como las oleaginosas) son muy desfavorables para los hongos, que prefieren carbohidratos fácilmente disponibles como fuente de energía para su desarrollo (Bhattacharya y Raha, 2002). Por esta razón, la pérdida de carbohidratos está generalmente asociada al ataque producido por hongos. En tal sentido hay diversos trabajos que estudian los cambios producidos por el ataque de hongos tanto en la planta como en la semilla de soja (Howel *et al.*, 1959; Milner y Geddes, 1946; Wilson, 1995).

Por otro lado, el tratamiento térmico y la presión a la que se produce el proceso E-P no sólo podrían afectar la frecuencia de aislamiento de ciertos géneros

fúngicos sino también la carga fúngica total, razón por la cual los recuentos de UFC reportados en el expeller de soja fueron bajos y se encontraron por debajo de 1 Log10 UFC/g de MS. Este sería además el motivo por el cual no se encontró una relación entre el contenido de humedad del expeller y los recuentos de UFC.

4.5.2.2. Frecuencias de aislamientos e identificación de géneros/especies

Los hongos son los principales responsables de las pérdidas y deterioro de los granos durante el almacenamiento (Castellari *et al.*, 2015). Prefieren ambientes o substratos con alto contenido de humedad y son los agentes responsables del aumento de la respiración de los granos húmedos. Los hongos que atacan los granos pueden ser hongos de campo y hongos del almacenamiento, siendo estos últimos los que representan un mayor riesgo para el deterioro en soja cuando el contenido de humedad de los granos está en equilibrio con una humedad relativa superior al 67% (Bartosik, 2003). Los hongos que proliferan con mayor frecuencia en los granos de soja almacenados son algunas especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* y se asocian principalmente con pérdidas de calidad tales como pérdida del poder germinativo, producción de micotoxinas, y pérdida de materia seca (Castellari *et al.*, 2015).

En las muestras de expeller analizadas se identificaron con una mayor frecuencia los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, y hongos de la clase *Zygomycetes*, mientras que el género *Fusarium* fue encontrado en muy baja frecuencia. Por otra parte, en sólo dos de las plantas de E-P analizadas se pudieron analizar la frecuencia de aislamiento del grano de soja que ingresaba a procesamiento. Allí se encontró que en promedio *Fusarium* fue aislado en el 14,1% (de cual el 4,5% pertenecía a *F. verticilloides* y el resto a *F. graminearum*) de las muestras de poroto de soja, mientras que en el expeller resultante el género *Fusarium* no fue detectado. A su vez, el género *Aspergillus* fue aislado en el 52,4% de las muestras de poroto (siendo el 50,8% *A. flavus*), mientras que la frecuencia de aislamiento en el expeller resultante se redujo al 4,2%.

Al comparar la composición de la micobiota presente en el grano y en expeller de soja analizados en este ensayo respecto a otros estudios, se pudo observar que en soja recién cosechada se observan claras diferencias en los géneros típicamente denominados de campo (como *Fusarium* y *Alternaria*) (Zelaya et al., 2013). Estos autores caracterizaron las especies fúngicas más frecuentes en soja recién cosechada de varias regiones productivas de Argentina y los géneros más frecuentemente aislados fueron *Fusarium* (88,8%) y *Alternaria* (83,9%), mientras que en menor frecuencia se encontraron a *Aspergillus* (21,5%) y *Penicillium* (11,2%). Por otro lado, Ochandio (2014), utilizando una mezcla de diferentes variedades de soja provenientes del sudeste de la provincia de Buenos Aires, encontró que los géneros más frecuentes fueron *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium*. Por su parte, Barros et al. (2010) encontraron que géneros como *Fusarium* y *Alternaria* fueron frecuentemente aislados (62,8%) en soja recién cosechada, mientras que luego de 6 a 8 meses de almacenamiento el género *Fusarium* no fue detectado y *Alternaria* se halló en muy baja frecuencia. Estos autores también mencionan que cuando el grano se procesó inmediatamente después de la cosecha para la obtención de harina el género *Fusarium* no fue detectado en el producto procesado, siendo los géneros más frecuentes *Aspergillus* y *Eurotium*.

Tanto los resultados obtenidos como los antecedentes encontrados parecen indicar que, si bien no se conoce el historial previo de los materiales recolectados en el presente estudio, es posible que no se trate de poroto de soja recién cosechado. Esto podría explicar el hecho de que géneros de hongos típicamente de campo, como *Fusarium* o *Alternaria* se reporten en baja o nula frecuencia en el grano. Además, el 100% de las muestras de expeller analizadas presentaron micotoxinas producidas por el género *Fusarium* con lo cual el proceso de E-P (temperatura y presión) podría tener un efecto en la frecuencia de aparición de este y otros géneros de hongos.

4.5.2.3. Micotoxinas en poroto y expeller de soja

La micotoxina DON se encontró en la totalidad de las muestras analizadas de poroto de soja, en concentraciones que oscilaron entre 496 y 1948 µg/kg, aunque la especie productora de esta toxina (*F. graminearum*) fue detectada en

una baja frecuencia como se mostró en la Tabla 10. Barros *et al.* (2010) determinaron que la aparición de *Fusarium* (hongo de campo) fue más frecuente en los estadios R6 y R7, cuando la actividad de agua (aw) del grano en la planta es cercana a 0,99, donde además observaron la mayor producción de DON. A medida que la aw se acerca a 0,7 el riesgo de la producción de dicha micotoxina es menor. Las reglamentaciones de la Unión Europea indican que los límites de ingesta de DON, dependiendo del tipo de alimento, se encuentran entre 900 y 12.000 µg/kg (Stroka y Gonc, 2019). Esto indica que para ciertos casos los niveles de DON hallados en este estudio podrían ser riesgosos, aunque están muy cerca del rango inferior. En poroto de soja también se detectaron FB₁ y FB₂, aunque en menor concentración y frecuencia que DON, mientras que las aflatoxinas no fueron detectadas.

Los reportes en Argentina de micotoxinas en soja y sus derivados son escasos y con resultados en muchos casos muy variables. Barros *et al.* (2010), en coincidencia con los resultados reportados en el presente trabajo, detectaron niveles bajos de aflatoxinas y fumonisinas, y mayores niveles de contaminación con DON. Por otro lado, Zelaya *et al.* (2013) no hallaron micotoxinas derivadas de las especies potencialmente micotoxigénicas aisladas. A su vez, Oviedo *et al.* (2011) detectaron en muestras de poroto de soja alternariol (AOH) y alternariol monomethyl ether (AME) en concentraciones que oscilan entre 25 y 211 µg/kg, y entre 62 y 1153 µg/kg, respectivamente. Considerando que existe una relación entre el riesgo de contaminación con micotoxinas y la frecuencia de aparición de especies potencialmente micotoxigénicas, es probable que las micotoxinas más frecuentes sean producidas por hongos de campo (como *Fusarium* y *Alternaria*). Además, la producción de micotoxinas está sujeta a una compleja relación de factores ambientales y de manejo del cultivo, entre otros (Pacin 2006; Zelaya *et al.*, 2013).

Por otro lado, en las muestras de expeller de soja, se detectaron DON, fumonisinas, y las aflatoxinas G₁ y G₂ como se muestra en Tabla 11. La presencia de DON en expeller se redujo sustancialmente con respecto a los valores observados en las muestras de poroto (de 100 a 29,2%). Esto se puede deber a que la toxina en cuestión es termolábil, es decir que es susceptible a tratamientos de altas temperaturas. Diferentes procesos industriales (extrusión,

lío-filización, molienda, prensado, fermentación, etc.) pueden contribuir a la reducción de los niveles de micotoxinas (Ricca, 2012). En tal sentido, Cazzaniga *et al.* (2001) demostraron que el proceso de extrusado de harina de maíz contaminada con diferentes micotoxinas fue efectivo para lograr la inactivación total de DON en todas las condiciones evaluadas (rango de temperatura entre 150 y 180 °C). En concordancia con estos resultados, el proceso de E-P utilizado para la extracción de aceite del poroto de soja es un proceso que somete a la semilla a temperaturas de entre 100 y 165 °C, valores que están alrededor de la temperatura que tolera la toxina y, por lo tanto, habría reducido su concentración en el expeller.

Las concentraciones de FB₁ y FB₂, producidas principalmente por *F. verticillioides* (Marasas, 2001; Rheeder *et al.*, 2002), aumentaron en el expeller respecto de las cantidades encontradas en poroto de soja. Se sabe que el límite de cuantificación de los métodos HPLC/fluorescencia oscila entre 0,02 y 0,5 µg/kg para maíz, pero no hay información al respecto para expeller.

Si bien las fumonisinas no son termoresistentes, presentan una mayor tolerancia a las altas temperaturas de procesamiento respecto de las DON. Los efectos de la aplicación de calor en la estabilidad de las fumonisinas en general dependen de los distintos procedimientos a los que se somete la matriz, de las temperaturas y de la duración del tratamiento térmico que se le realice a un determinado producto. Varios estudios han documentado una reducción significativa de los niveles de fumonisinas durante la elaboración a altas temperaturas, generalmente mayores a los 150 °C (Jackson *et al.*, 1997; Scott y Lawrence, 1995). Cazzaniga *et al.* (2001) evaluaron no sólo temperaturas entre 150 y 180 °C sino que además la adición de metabisulfito de sodio en diferentes concentraciones para lograr la inactivación de aflatoxinas. Sin embargo sólo lograron una inactivación parcial de aflatoxinas. En el caso de AFB₁, la adición de metabisulfito de sodio resultó en una pequeña mejora en el grado de inactivación pero fue insuficiente para poder garantizar la seguridad del alimento, con lo cual sugirieron realizar la extrusión bajo condiciones más severas.

Como se mencionó anteriormente, la reducción de la concentración de micotoxinas en un producto depende de varios factores, incluyendo la

temperatura de la extrusora, la velocidad del tornillo, el contenido de humedad de la mezcla de extrusión y el tiempo de residencia en la extrusora (Bullerman y Bianchini, 2007; Cazzaniga *et al.*, 2001). En el proceso de E-P, además de la reducción de las concentraciones de toxinas producto del efecto del tratamiento térmico se debe contemplar que durante el prensado se produce la eliminación de un gran porcentaje del aceite de la matriz (en algunos casos de hasta el 70%) que podría provocar un aumento en términos relativos del contenido de micotoxinas. Es posible que las micotoxinas pudieran quedar retenidas en la matriz del expeller, generando una concentración de las mismas respecto de las cantidades encontradas en poroto y resultando en un aumento de los valores obtenidos durante su cuantificación.

Las aflatoxinas B₁ y B₂, generalmente producidas por *A. flavus* y *A. parasiticus*, no fueron detectadas en poroto ni en expeller de soja. Las aflatoxinas G₁ y G₂, producidas por *A. parasiticus*, no se detectaron en poroto (quizás por estar en concentraciones menores al límite de cuantificación) pero si fueron detectadas en un alto porcentaje de muestras de expeller de soja (cerca del 42%) pero por debajo del límite de cuantificación. Esto también podría deberse a un efecto de concentración de la micotoxina en el subproducto.

4.6. CONCLUSIONES PARCIALES

Se determinó la composición química y variabilidad del poroto y expeller de soja, incluyendo contenido de humedad, proteínas, aceite, fibras y cenizas, y se caracterizaron los principales parámetros de calidad como actividad ureásica, acidez y solubilidad proteica en KOH.

Las variaciones en el contenido de humedad del poroto de soja resultaron en variaciones en la composición y calidad del expeller de soja. El control preciso de la humedad de la semilla es de capital importancia, no sólo para maximizar la extracción de aceite y lograr un expeller con composición uniforme, sino también para asegurar la desactivación de los factores anti-nutricionales.

La humedad del expeller de soja no afectó los parámetros físicos, tales como el ángulo de reposo y el peso hectolítrico.

En general, el proceso de extrusado-prensado redujo sustancialmente los recuentos de hongos y levaduras en el expeller de soja.

La contaminación con micotoxinas no sería un problema de gran importancia en el expeller de soja.

5. Capítulo II: Eficiencia de extracción de aceite por extrusado- prensado

5.1. INTRODUCCIÓN

Se sabe que la humedad del grano afecta diferentes propiedades en granos especiales que requieren atributos de calidad específicos, como el volumen de expansión en el maíz pisingallo (Hallauer, 2000; Metzger *et al.*, 1989), o la eficiencia de extracción de aceite por E-P en el poroto de soja (Capítulo I). Por lo tanto, el secado de granos a una humedad específica es un requisito indispensable para estas industrias.

El secado a alta temperatura puede resultar en altos porcentajes de granos fisurados o producir otros daños que provocan indefectiblemente diferentes grados de pérdida de calidad (Brooker *et al.*, 1992). Por lo tanto, en el secado de granos especiales o de granos que se industrializan para producir alimentos de consumo humano, tales como maíz pisingallo y el poroto de soja para la obtención de concentrados o texturizados entre otros, es importante tomar recaudos para minimizar los posibles daños. Una de las técnicas más implementadas es el secado con sistemas de baja temperatura, sobre todo cuando el grano se cosecha con alta humedad (de la Torre *et al.*, 2011). Por el contrario, el secado de granos destinados a la formulación de alimentos balanceados generalmente se realiza sin mayores controles de temperatura, ya que estos productos no tienen grandes requerimientos de calidad funcional, siendo los aportes nutricionales los principales atributos a conservar.

La estabilización o acondicionamiento de los granos luego de tratamientos de secado resulta de gran importancia para ciertas industrias. En general, los tratamientos de secado de granos destinados a la elaboración de alimentos o de granos especiales se realizan en condiciones controladas, haciendo circular una determinada masa de aire, con condiciones específicas de temperatura y humedad relativa, a través de la masa de granos. Sin embargo, reducir la humedad promedio no garantiza una adecuada condición de procesamiento de los granos, ya que se puede obtener una masa de granos con una humedad promedio deseada pero con gran variabilidad en la humedad de granos individuales (Bartosik *et al.*, 2009). Por esta razón, almacenar los granos luego del secado para facilitar la uniformidad en la humedad de los granos individuales suele ser una práctica recomendada previa al procesamiento.

Como se mencionó en el Capítulo I, en Argentina los fabricantes de los equipos de E-P recomiendan una humedad de procesamiento de soja de entre 10 y 11% (b.h.) para maximizar la extracción de aceite, logrando en general una eficiencia de extracción de aceite menor al 70% (Bragachini *et al.*, 2017; Juan *et al.*, 2015). Además, se demostró que la soja presenta una alta variabilidad en la calidad debido en gran parte a las características propias de la región donde se produce el cultivo y a las diferentes variedades utilizadas (fenotipo). Si a esta variabilidad (fenotipo) le sumamos la variabilidad debida al procesamiento para la obtención de expeller (equipamiento y condiciones en que se lleva a cabo el proceso de E-P), es esperable que el producto extrusado presente una composición y calidad muy variables. Por lo tanto, en este capítulo se evaluará, en condiciones controladas, el efecto del tratamiento de secado del poroto de soja hasta diferentes humedades finales, y con diferentes temperaturas sobre la eficiencia de extracción de aceite. A su vez, también se evaluará el efecto de la variabilidad de la humedad de los granos individuales sobre la eficiencia de extracción de aceite.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3) Evaluar el efecto de la humedad del grano acondicionado en la eficiencia de extracción de aceite por extrusado-prensado
- 4) Evaluar el efecto de la temperatura de secado del grano en la eficiencia de extracción de aceite por extrusado-prensado
- 5) Evaluar el efecto de la dispersión del contenido de humedad del poroto de soja sobre la eficiencia de extracción de aceite por extrusado-prensado

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1. Toma de muestras de poroto y expeller de soja

Este ensayo se llevó a cabo en una planta de E-P ubicada en la localidad de Balcarce. Dicha planta de E-P cuenta con una secadora de alta temperatura de caballetes (con una capacidad de 22 m³ o 17 t aproximadamente) que permitió realizar un secado homogéneo. La planta de E-P consta de un extrusor (YPHS138 Extruder, Anyang General International, China) con una capacidad de 0,8-1,5 t/h y dos prensas (OIL PRES ZX-130H, Anyang General International, China) con una capacidad de 0,4-0,5 t/h cada una.

Para evaluar el efecto de la humedad del grano en la eficiencia de extracción de aceite por E-P se acondicionaron, mediante un secado con aire a alta temperatura (115 °C), diferentes lotes de 17 t de poroto de soja cada uno con una humedad inicial de alrededor de 15% (b.s.) hasta alcanzar los niveles de humedad teóricos de 9 y 11% (b.h.) (equivalentes a 10 y 12% b.s.). Los tiempos de residencia en la secadora fueron 4:15 hs para alcanzar una humedad de 9% (b.h.) y 2:30 hs para alcanzar una humedad de 11% (b.h.). El tiempo de secado resultó ser muy dependiente de las condiciones ambientales. Cada lote de soja quedó alojado en la secadora hasta el día siguiente. Luego del secado, cada lote de poroto de soja fue almacenado en un silo de estabilización por alrededor de 24 - 48 hs previo a su procesamiento en la planta de E-P. Por otra parte, también se procesó un lote de soja sin secar con 14% de humedad (b.h.) (15% b.s.).

El efecto de la temperatura de secado del poroto de soja sobre la eficiencia de extracción fue evaluada a 9% (b.h.) de humedad del poroto. Para ello, se realizaron dos tratamientos de secado, a dos lotes de soja diferentes, regulando la temperatura del aire de secado a 80 y 115 °C (temperaturas mínima y máxima que permite el equipamiento disponible, siendo 115 °C la temperatura usual de trabajo de la planta de E-P). La humedad final de 9% (b.h.) se logró exponiendo cada lote de semillas a diferentes tiempos de secado. Los tiempos de secado fueron 3:30 hs para el lote secado a 115 °C y 7:15 hs para el lote secado a 80 °C. El tiempo de secado fue muy prolongado a 80 °C debido a que las condiciones ambientales el día del ensayo fueron muy

desfavorables con temperaturas muy bajas y lluvia, lo cual afectó la eficiencia térmica del secado.

En ambos ensayos, durante todo el tratamiento de secado la humedad del poroto se fue controlando con un medidor portátil (Tesda, Plus 2, Argentina) a partir de una muestra de poroto de soja obtenida en una salida de la secadora para determinar el punto final del proceso de secado.

Cada lote de soja almacenado en silo luego del secado fue procesado en tres días de producción en la planta de E-P. Por esta razón, las muestras de poroto que ingresan a la extrusora y el expeller producido fueron tomadas durante los tres días consecutivos de procesamiento de acuerdo a lo descrito en la sección 4.3.1. del Capítulo I. De cada día de muestreo se conformó una muestra compuesta de poroto y expeller a partir de 4 sub-muestras recogidas con una diferencia de 15 - 20 min. De esta manera se logró capturar la mayor variabilidad posible de cada lote procesado. Los pares de muestras compuestas (poroto y expeller) se remitieron inmediatamente al laboratorio de Poscosecha de Granos de la EEA INTA Balcarce para su procesamiento y análisis.

5.3.2. Composición del poroto y del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano

La composición del poroto y del expeller de soja se determinó por medio de NIRS, de acuerdo a la metodología descrita anteriormente en las secciones 4.3.2.1.2.1., 4.3.2.1.2.2., y 4.3.3.2.1.1. del Capítulo I.

5.3.3. Eficiencia de extracción

La eficiencia de extracción de aceite se determinó de la misma forma que se explicó previamente en la sección 4.3.3.2.1.2. del Capítulo I.

5.3.4. Contenido de humedad de grano individual

El contenido de humedad del grano individual se determinó en muestras que se tomaron antes del ingreso a la extrusora de acuerdo a la metodología descrita en la sección 4.3.2.1.2.2. del Capítulo I.

5.3.5. Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva (media, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV)) para caracterizar la composición del poroto y del expeller de soja. Además se ajustaron modelos de regresión lineal simple o múltiple para caracterizar la relación entre parámetros de composición del poroto y la eficiencia de extracción de aceite en expeller de soja obtenido. Con la finalidad de comparar todos los subconjuntos posibles de modelos se utilizó el R^2 ajustado y los criterios de información de Akaike (AIC) y bayesiano (BIC), pero sólo se presentan en este trabajo el R^2 y el p-valor para cada modelo. Se verificaron los supuestos para todos los modelos seleccionados. Los análisis se realizaron con el programa estadístico R (R Core Team, 2018. Versión 3.5.1).

5.4. RESULTADOS

5.4.1. Composición de poroto y expeller de soja

La composición química del poroto de soja (contenido de humedad, proteína y aceite) luego del tratamiento de secado se muestra en la Tabla 12. Para el ensayo de efecto del contenido de humedad en la eficiencia de extracción, los tres grupos de humedades teóricas fueron 9,7% b.s., 10,9% b.s. y 16,2% b.s. (correspondiente a los tratamientos descriptos en la metodología como 10, 12 y 15% b.s., respectivamente). Esta diferencia responde a la dificultad típica de realizar ensayos a escala real, donde el control de las variables es dificultoso. De cualquier manera se considera que la diferencia entre los niveles de humedad logrados fueron adecuados para el experimento propuesto. Respecto del contenido de proteína del poroto de soja en estos tratamientos se puede observar que hubo algunas diferencias, pero en líneas generales estuvo entre 37 y 38% (b.s.), mientras que el contenido de aceite fluctuó entre 19 y 20% (b.s.).

Por otro lado, para el ensayo de efecto de temperatura del aire de secado sobre la eficiencia de extracción, se puede ver que la humedad lograda fue muy similar para los dos tratamientos térmicos evaluados (80 y 115 °C). Aquí el contenido de humedad teórico que se intentaba alcanzar era de 9% (b.h.) (equivalente a 10% b.s.) y se obtuvieron 9,1% b.s. para 115 °C y 9,2% b.s. para 80 °C. A su vez, se observó mayor variabilidad en el contenido de proteína (37,7 - 39,7% b.s. para 115 y 80 °C, respectivamente) y de aceite (17,7 - 20,4% b.s. para 115 y 80 °C, respectivamente).

Tabla 12. Composición del poroto de soja analizada por medio de NIRS sometido diferentes tratamientos de secado a escala real para evaluar eficiencia de extracción de aceite

Ensayo	Temperatura de secado (°C)	Repetición	CHp teórico (% b.s.)	CHp (% b.s.)	CPp (% b.s.)	CAP (% b.s.)
Efecto del CH	115	1	10	10,2 ± 0,32	38,2 ± 0,44	20,5 ± 0,06
		2		9,5 ± 0,38	37,8 ± 0,37	20,7 ± 0,29
		3		9,3 ± 0,74	37,9 ± 0,56	20,8 ± 0,26
		Todas		9,7 ± 0,62 ^a	37,9 ± 0,44 ^{ab}	20,7 ± 0,24 ^a
	115	1	12	11,1 ± 0,32	37,4 ± 0,09	20,5 ± 0,06
		2		10,9 ± 0,34	37,2 ± 0,74	20,5 ± 0,27
		3		10,8 ± 0,22	37,5 ± 0,49	20,3 ± 0,12
		Todas		10,9 ± 0,30 ^b	37,4 ± 0,46 ^a	20,5 ± 0,17 ^a
	Sin secado	1	15	16,2 ± 0,12	37,7 ± 0,12	19,2 ± 0,07
		2		16,2 ± 0,20	37,9 ± 0,78	19,7 ± 0,19
		3		16,2 ± 0,35	38,3 ± 0,52	19,4 ± 0,09
		Todas		16,2 ± 0,21 ^c	38,0 ± 0,55 ^b	19,5 ± 0,25 ^b
Efecto de la temperatura del aire de secado	115	1	10	8,6 ± 0,40	37,8 ± 0,07	20,2 ± 0,23
		2		8,5 ± 0,06	38,5 ± 0,33	20,1 ± 0,05
		3		10,2 ± 0,44	37,5 ± 0,58	20,9 ± 0,28
		Todas		9,1 ± 0,87 ^A	37,9 ± 0,56 ^A	20,4 ± 0,40 ^A
	80	1	10	9,5 ± 0,33	39,5 ± 0,36	17,7 ± 0,03
		2		9,2 ± 0,18	39,7 ± 0,19	17,8 ± 0,14
		3		9,0 ± 0,40	39,8 ± 0,51	17,7 ± 0,21
		Todas		9,2 ± 0,36 ^A	39,7 ± 0,36 ^B	17,7 ± 0,13 ^B

Nota: CHp, CPp y CAP son el contenido de humedad, de proteína y de aceite del poroto de soja respectivamente. Se muestran los valores promedios de las tres repeticiones de muestreos compuestos seguido de ± el desvío estándar. Letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del poroto para el tratamiento de secado a diferentes humedades y letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del expeller para el tratamiento térmico a diferentes temperaturas (p<0,05)

En la Tabla 13 se puede observar la composición del expeller de soja obtenido a partir del poroto de soja sometido a los diferentes tratamientos de secado. Se puede apreciar que a medida que incrementa la humedad del poroto de soja (9,7; 10,9 y 16,2% b.s.) incrementa la humedad del expeller de soja (4,1 ± 0,60; 4,8 ± 0,22 y 9,4 ± 0,46% b.s., respectivamente), incrementa sustancialmente el contenido de aceite residual (7,2 ± 0,92; 8,6 ± 0,14 y 14,5 ± 0,23% b.s., respectivamente), y el contenido de proteína disminuye (41,4 ± 1,38; 41,3 ± 0,14 y 38,6 ± 0,25% b.s., respectivamente).

La composición del expeller fue similar para los dos tratamientos de temperatura de secado. La humedad fue de $3,9 \pm 0,28$ y $3,5 \pm 0,16\%$ b.s., el contenido residual de aceite de $6,9 \pm 0,32$ y $6,4 \pm 0,26\%$ b.s. y la proteína de $43,4 \pm 0,37$ y $44,3 \pm 0,25\%$ b.s., para los tratamientos de 115 y 80 °C, respectivamente.

Tabla 13. Composición del expeller de soja analizada por medio de NIRS obtenido a partir del poroto de soja sometido a los diferentes tratamientos de secado a escala real para evaluar eficiencia de extracción de aceite

Ensayo	Temperatura de secado (°C)	Repetición	CHp (% b.s.)	CHe (% b.s.)	CPe (% b.s.)	CAe (% b.s.)
Efecto del CH	115	1	9,7	$4,9 \pm 0,15$	$42,5 \pm 0,40$	$8,5 \pm 0,08$
		2		$3,9 \pm 0,08$	$42,1 \pm 0,15$	$6,7 \pm 0,03$
		3		$3,6 \pm 0,02$	$39,6 \pm 0,11$	$6,6 \pm 0,04$
		Todas		$4,1 \pm 0,60^a$	$41,4 \pm 1,38^a$	$7,2 \pm 0,92^a$
	115	1	10,9	$5,1 \pm 0,10$	$41,3 \pm 0,03$	$8,7 \pm 0,02$
		2		$4,7 \pm 0,07$	$41,4 \pm 0,18$	$8,5 \pm 0,15$
		3		$4,6 \pm 0,11$	$41,3 \pm 0,21$	$8,5 \pm 0,09$
		Todas		$4,8 \pm 0,22^b$	$41,3 \pm 0,14^a$	$8,6 \pm 0,14^b$
	Sin secado	1	16,2	$9,1 \pm 0,11$	$38,3 \pm 0,24$	$14,7 \pm 0,12$
		2		$9,1 \pm 0,10$	$38,6 \pm 0,13$	$14,6 \pm 0,08$
		3		$10,0 \pm 0,06$	$38,8 \pm 0,12$	$14,2 \pm 0,03$
		Todas		$9,4 \pm 0,46^c$	$38,6 \pm 0,25^b$	$14,5 \pm 0,23^c$
Efecto de la temperatura del aire de secado	115	1	9,1	$3,6 \pm 0,07$	$43,8 \pm 0,28$	$6,5 \pm 0,01$
		2		$4,0 \pm 0,08$	$43,3 \pm 0,19$	$6,9 \pm 0,07$
		3		$4,2 \pm 0,11$	$43,0 \pm 0,21$	$7,3 \pm 0,08$
		Todas		$3,9 \pm 0,28^A$	$43,4 \pm 0,37^A$	$6,9 \pm 0,32^A$
	80	1	9,2	$3,6 \pm 0,01$	$44,1 \pm 0,20$	$6,6 \pm 0,08$
		2		$3,6 \pm 0,11$	$44,6 \pm 0,17$	$6,6 \pm 0,12$
		3		$3,3 \pm 0,07$	$44,2 \pm 0,18$	$6,1 \pm 0,01$
		Todas		$3,5 \pm 0,16^B$	$44,3 \pm 0,25^B$	$6,4 \pm 0,26^B$

Nota: CHe, CPe y CAe son el contenido de humedad, de proteína y de aceite del expeller de soja respectivamente. Se muestran los valores promedios de las tres repeticiones de muestreos compuestos seguido de $\pm$ el desvío estándar. Letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del expeller para el tratamiento de secado a diferentes humedades y letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del expeller para el tratamiento térmico a diferentes temperaturas ($p < 0,05$)

5.4.2. Efecto de la humedad del grano en la eficiencia de extracción de aceite

Como se puede ver en la Tabla 14, el contenido de humedad del poroto de soja tuvo un efecto notorio en la eficiencia de extracción lograda. Para las humedades 9,7; 10,9 y 16,2% (b.s.) se obtuvo una eficiencia de extracción de $64,9 \pm 4,71$; $58,0 \pm 0,79$ y $25,5 \pm 1,73\%$, respectivamente.

Tabla 14. Efecto del contenido de humedad del poroto de soja alcanzado luego de ser sometido al tratamiento de secado a escala real en la eficiencia de extracción de aceite luego del proceso de E-P

Temperatura del aire de secado (°C)	Repetición	CHp (% b.s.)	Eficiencia de extracción (%)
115	1	9,7	$58,6 \pm 0,49$
	2		$67,6 \pm 0,50$
	3		$68,4 \pm 0,57$
	Todas		$64,9 \pm 4,71^a$
115	1	10,9	$57,5 \pm 0,15$
	2		$58,3 \pm 1,30$
	3		$58,3 \pm 0,39$
	Todas		$58,0 \pm 0,79^b$
Sin secado	1	16,2	$23,4 \pm 0,87$
	2		$26,2 \pm 1,01$
	3		$26,9 \pm 0,48$
	Todas		$25,5 \pm 1,73^c$

Nota: CHp es el contenido de humedad del poroto de soja. Se muestran los valores promedios de las tres repeticiones de muestreos compuestos seguido de $\pm$ el desvío estándar. Letras iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la eficiencia de extracción para el tratamiento de secado a diferentes humedades ($p < 0,05$)

5.4.3. Efecto de temperatura de secado en la eficiencia de extracción de aceite

En la Tabla 15 se muestra el efecto de los tratamientos térmicos sobre el proceso de E-P. Para el tratamiento térmico de 115 °C en promedio se obtuvo una eficiencia de extracción de $66,2 \pm 1,24\%$ del aceite presente en el poroto, mientras que para el tratamiento a 80 °C la eficiencia promedio fue de $63,9 \pm 1,44\%$.

Tabla 15. Efecto del tratamiento de secado a escala real realizado al poroto de soja hasta alcanzar la humedad óptima en la eficiencia de extracción de aceite luego del proceso de E-P

Temperatura del aire de secado (°C)	Repetición	CHp (% b.s.)	Eficiencia de extracción (%)
115	1	9,1	67,7 ± 0,34
	2		65,7 ± 0,28
	3		65,2 ± 0,74
	Todas		66,2 ± 1,24 ^a
80	1	9,2	62,8 ± 0,41
	2		63,0 ± 0,46
	3		65,7 ± 0,37
	Todas		63,9 ± 1,44 ^b

Nota: CHp es el contenido de humedad del poroto de soja. Se muestran los valores promedios de las tres repeticiones de muestreos compuestos seguido de ± el desvío estándar. Letras iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la eficiencia de extracción para el tratamiento térmico a diferentes temperaturas ($p < 0,05$)

5.4.4. Efecto del contenido de humedad de grano individual de soja sobre la eficiencia de extracción

En la Tabla 16 se muestran los valores promedio, SD, y rango (mínimo y máximo) de humedad de grano individual para cada uno de los tratamientos de secado realizados para los ensayos donde se evaluaron el efecto del contenido de humedad y el efecto de la temperatura del aire de secado en la eficiencia de extracción de aceite. Por un lado se puede apreciar que hay una concordancia entre la humedad medida en una masa de granos y la humedad promedio de los granos individuales (9,7 y 8,8% (b.s.); 10,9 y 10,5% (b.s.); 16,2 y 15,8% (b.s.), respectivamente). Por otra parte se puede apreciar que a medida que la humedad final de secado es menor, la variabilidad en la humedad de los granos individuales aumenta. El SD fue de 0,84; 0,79 y 0,66 para humedades finales de 9,7; 10,9 y 16,2% b.s., respectivamente. Esto se explica por qué los tratamientos de secado a menor humedad final, que requieren que el grano esté sometido al proceso de secado durante mayor tiempo, exhiben mayor variabilidad en la humedad de granos individuales.

Por otro lado, al analizar el efecto del tratamiento térmico, se aprecia que el SD aumentó con la temperatura del aire de secado (0,75 y 1,25 para 80 y 115 °C, respectivamente). Estos resultados mantienen coherencia con lo que se

esperaba, ya que mayores temperaturas en el aire de secado usualmente contribuyen a aumentar la variabilidad en las condiciones de secado entre granos individuales.

Tabla 16. Contenido de humedad de grano individual del poroto de soja sometido a diferentes tratamientos de secado antes del ingreso al proceso de E-P

Ensayo	Temperatura del aire de secado (°C)	Repetición	CHp (% b.s.)	CHp individual (% b.s.)	CV (%)	Rango de CHp (% b.s.)
Efecto del CH	115	1	9,7	9,2 ± 0,97	10,6	6,7 – 11,8
		2		8,8 ± 0,62	7,0	7,3 – 10,1
		3		8,3 ± 0,66	7,9	6,7 – 10,4
		Todas		8,8 ± 0,84 ^a	9,6	6,7 – 11,8
	115	1	10,9	10,5 ± 0,68	6,4	8,1 – 13,1
		2		10,6 ± 0,91	8,6	7,9 – 13,5
		3		10,4 ± 0,76	7,3	8,5 – 12,1
		Todas		10,5 ± 0,79 ^b	7,5	7,9 – 13,5
	Sin secado	1	16,2	15,8 ± 0,71	4,5	14,3 – 18,2
		2		15,8 ± 0,63	4,0	13,6 – 17,2
		3		15,9 ± 0,66	4,1	14,6 – 17,8
		Todas		15,8 ± 0,66 ^c	4,2	13,6 – 18,2
Efecto de la temperatura del aire de secado	115	1	9,1	8,2 ± 0,47	5,8	7,1 – 10,9
		2		8,6 ± 1,18	13,7	6,5 – 13,3
		3		8,7 ± 1,72	19,7	5,1 – 13,7
		Todas		8,5 ± 1,25 ^A	14,8	5,1 – 13,7
	80	1	9,2	9,0 ± 0,83	9,3	7,8 – 12,2
		2		8,9 ± 0,68	7,6	7,5 – 10,8
		3		8,3 ± 0,49	5,9	7,2 – 9,8
		Todas		8,7 ± 0,75 ^B	8,6	7,2 – 12,2

Nota: CHp es el contenido de humedad del poroto de soja y CV es el coeficiente de variación. Se muestran los valores promedios de las tres repeticiones de muestreos compuestos seguido de ± el desvío estándar. Letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara el tratamiento de secado a diferentes humedades y letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se compara el tratamiento térmico a diferentes temperaturas (p<0,05)

No se encontró efecto de la dispersión de humedad de grano individual del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite por medio de E-P. Probablemente esto se deba a que la humedad promedio de la masa de granos tiene un efecto sustancialmente superior que la variabilidad de los granos individuales.

5.5. DISCUSIÓN

5.5.1. Efecto de la humedad del grano en la eficiencia de extracción

Como se muestra en la Tabla 14, la eficiencia de extracción de aceite disminuyó con el incremento de humedad del poroto de soja, siendo de 64,9; 58,0 y 25,5% para humedades de 9,7; 10,9 y 16,2% (b.s.), respectivamente. En el caso de las humedades más bajas (9,7 y 10,9% b.s.) la eficiencia de extracción promedio fue superior a la obtenida también en promedio para las once plantas evaluadas en el Capítulo I (56,0%) aunque también más baja que la esperada de acuerdo con la literatura consultada (Bargale *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 1987), lo cual puede dar lugar a especulaciones respecto del tipo de extrusor y prensa que se utiliza en esta PyME de E-P en particular. Finalmente se puede concluir que la humedad de mayor eficiencia de extracción fue 9,7% b.s. y que por lo tanto se estableció este valor como la humedad óptima para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos en la eficiencia de extracción de aceite por E-P. Cabe destacar que al no evaluarse humedades inferiores a 9,7% no es posible determinar si la eficiencia de extracción podría incrementar a humedades inferiores. Sin embargo, desde el punto de vista práctico y económico sería difícil que las plantas de E-P procesen porotos de soja con humedades inferiores, ya que el proceso de secado demandaría mucha energía y tiempo.

En el presente ensayo se utilizó el mismo equipamiento de E-P para todos los tratamientos, por lo que las diferencias obtenidas en la eficiencia de extracción de aceite se atribuyen a la materia prima utilizada (en los diferentes días de procesamiento pudo haber diferencias en la materia prima por fenotipo, y particularmente al contenido de humedad del poroto de soja que ingresa al proceso). Esto se explica con trabajos previos donde se documentó que tanto la temperatura como la humedad del poroto afectan las propiedades viscoelásticas y su comportamiento durante el proceso de extrusado (Aguilera y Kosikowski, 1976; Chen *et al.*, 2010; Floyd *et al.*, 1979).

Se probaron diferentes modelos para estimar la eficiencia de extracción para las humedades evaluadas durante el tratamiento de secado. Finalmente la Ecuación 10 fue la que mejor explica la eficiencia de extracción de aceite por

medio del E-P en función del contenido de humedad y del contenido de aceite del poroto de soja. Si bien los coeficientes son diferentes al modelo planteado en el Capítulo I (Ecuación 7 obtenida de muestras de diferentes plantas de E-P), los parámetros involucrados fueron los mismos. Por otro lado, la ordenada al origen fue diferente para cada nivel de humedad teórica como se muestra a continuación.

$$EfEx = -a + 7,47 \times CA_p$$

Ecuación 10

$$(R^2 = 0,983; p = 2,2 \times 10^{-16})$$

Donde: EfEx es la eficiencia de extracción de aceite (%), a es la ordenada al origen que toma los siguientes valores -89,49; -95,0 o -119,86 para 9,7; 10,9 o 16,2% de humedad (% b.s.), respectivamente, y CA_p es el contenido de aceite del poroto (% b.s.).

En la Figura 15 se muestran las diferentes relaciones entre los parámetros de composición del poroto más importantes con la eficiencia de extracción de aceite, el contenido de humedad y el contenido de aceite del expeller de soja. En estos gráficos se puede confirmar que la eficiencia de extracción estuvo afectada por el contenido de humedad del poroto (Figura 15-A) y el contenido de aceite (Figura 15-B). En lo que respecta al resto de los parámetros evaluados y sus interrelaciones no se pudo observar ninguna tendencia clara. Esto se debe a que los datos agrupados por contenido de humedad se comportan muy diferente como se puede apreciar en la Figura 15 (líneas y símbolos de diferentes colores denotan contenidos de humedad diferentes). Sin embargo se pueden establecer algunas tendencias. La Figura 15-C muestra que hay una relación entre el contenido de humedad del poroto y del expeller y la Figura 15-D entre la humedad de poroto y el contenido de aceite del expeller. Esta última relación es esperable debido a que la humedad del poroto afecta la eficiencia de extracción y, por lo tanto, debe afectar el contenido de aceite residual del expeller.

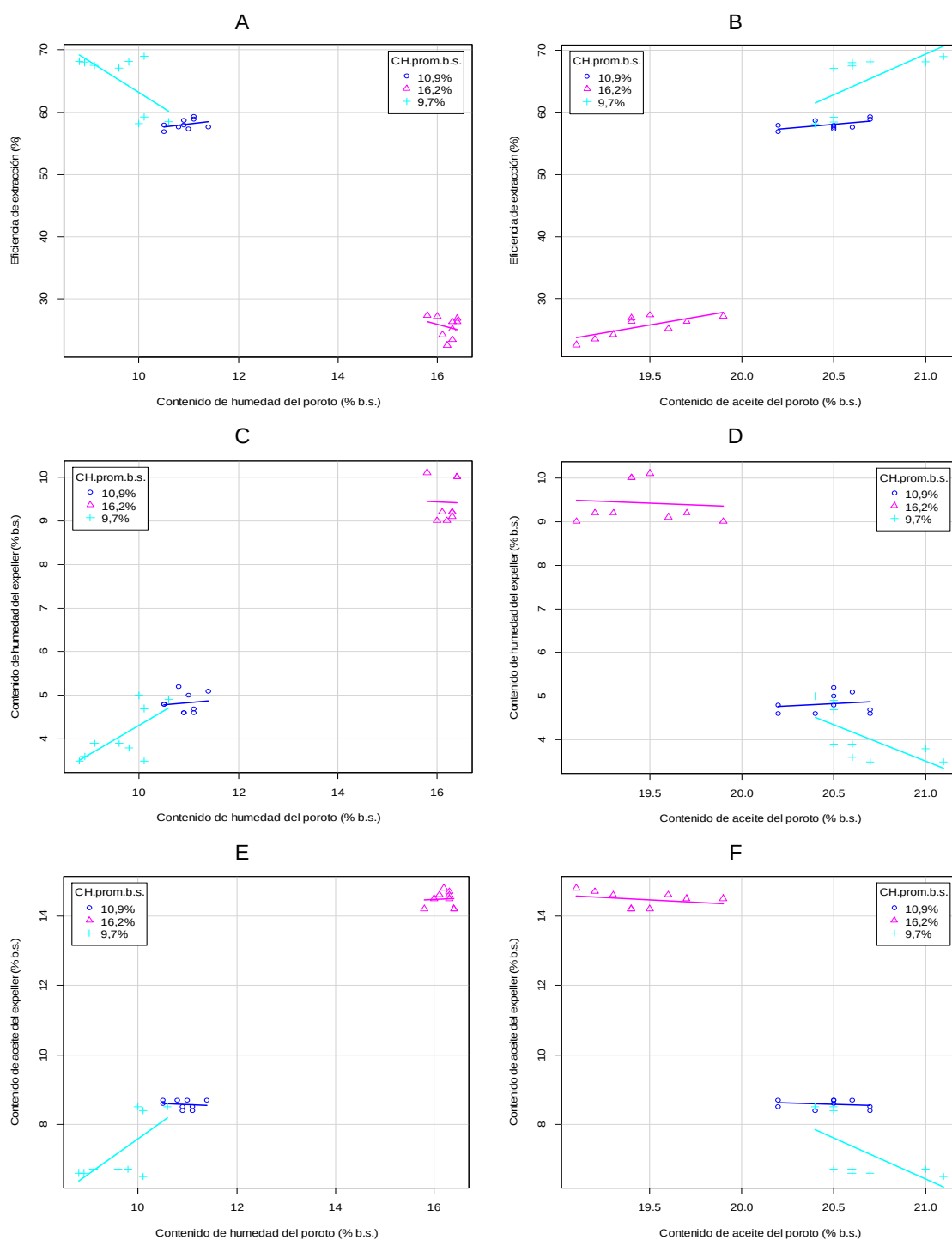


Figura 15. Efecto del contenido de humedad (A, C, E) y del contenido de aceite (B, D, F) del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite (A, B), el contenido de humedad (C, D) y el contenido de aceite (D, E) del expeller.

Se puede observar que los contenidos de humedad evaluados fueron muy distintos, y entre 10,9 y 16,2% (b.s.) la diferencia es muy amplia como para

poder establecer relaciones claras. Para calibrar modelos de predicción de composición del expeller en función de la composición del poroto sería necesario realizar ensayos adicionales contemplando humedades intermedias. A su vez, cada uno de los tratamientos de secado a escala real estuvieron afectados por condiciones climáticas particulares (temperatura y HR ambiente, viento, lluvia, etc.), creando posibles fuentes de variación no controladas. Esto podría subsanarse realizando un mayor número de repeticiones para cada humedad evaluada (en este estudio sólo se pudo realizar un único tratamiento de secado por humedad debido a limitaciones económicas, logística y de necesidad de producción bajo las condiciones normales de trabajo de la planta de E-P que proporcionó sus instalaciones para realizar el ensayo). Otra limitación de este ensayo es que no se pudo establecer si los lotes de soja sometidos a cada tratamiento de secado (cada uno de 17 t) pertenecían al mismo lote de producción o corresponden a lotes diferentes (efecto de fenotipo).

5.5.2. Efecto de temperatura del aire de secado en la eficiencia de extracción

En la Tabla 15 se muestra la eficiencia de extracción de aceite obtenida para los diferentes tratamientos térmicos evaluados para alcanzar el mismo contenido de humedad final en el poroto de soja (alrededor de 10% b.s.). En promedio la eficiencia de extracción obtenida fue de 66,2 y 63,9% para los dos tratamientos de 115 y 80 °C, respectivamente. Se puede apreciar que la eficiencia de extracción promedio fue superior para el tratamiento térmico más intenso. Posiblemente la temperatura del aire de secado más intensa permitió mejorar las propiedades viscoelásticas y facilitar los procesos mecánicos de ruptura del grano maximizando la extracción de aceite en concordancia con los resultados obtenidos por Floyd *et al.* (1979).

5.5.3. Efecto del contenido de humedad de grano individual de soja sobre la eficiencia de extracción

Como se estableció anteriormente, el contenido de humedad del poroto de soja afecta la extracción de aceite en el proceso de E-P (Ecuaciones 7 y 10).

Además, en el Capítulo I se informó el efecto de la variabilidad de la humedad de los granos individuales en el proceso de E-P y por lo tanto en la eficiencia de extracción de aceite.

La humedad de los granos individuales de soja tuvo una distribución monomodal luego de los tratamientos de secado a escala real (efecto de la humedad y de la temperatura del aire de secado en la eficiencia de extracción). En el caso del ensayo de efecto de la humedad final de secado el CV fue de 4,2; 7,5 y 9,6%, para 16,2; 10,9 y 9,7% de humedad (b.s.), menor al informado por Cardoso *et al.* (2007) (CV del 10%). Los mayores CV están asociados a aquellos lotes que efectivamente fueron sometidos a tratamientos térmicos más severos (mayor tiempo de secado para llegar a una humedad final más baja). Por otro lado, en el caso del ensayo donde se evaluó el efecto de la temperatura del aire de secado el CV fue de 8,6 y 14,8% para 80 y 115 °C, respectivamente (Tabla 16). Esto demuestra nuevamente que los tratamientos térmicos más severos resultaron en una mayor dispersión en la humedad de los granos individuales.

Al analizar la Figura 16 se puede apreciar que algunas repeticiones de los tratamientos de secado presentan poca dispersión de humedad (muestras 115 °C – R1 y 80 °C – R3), mientras que otras muestras resultaron con una mayor dispersión en la humedad de granos individuales. Esto puede deberse a variaciones no controladas del proceso de secado o a cambios en el lote de granos de soja.

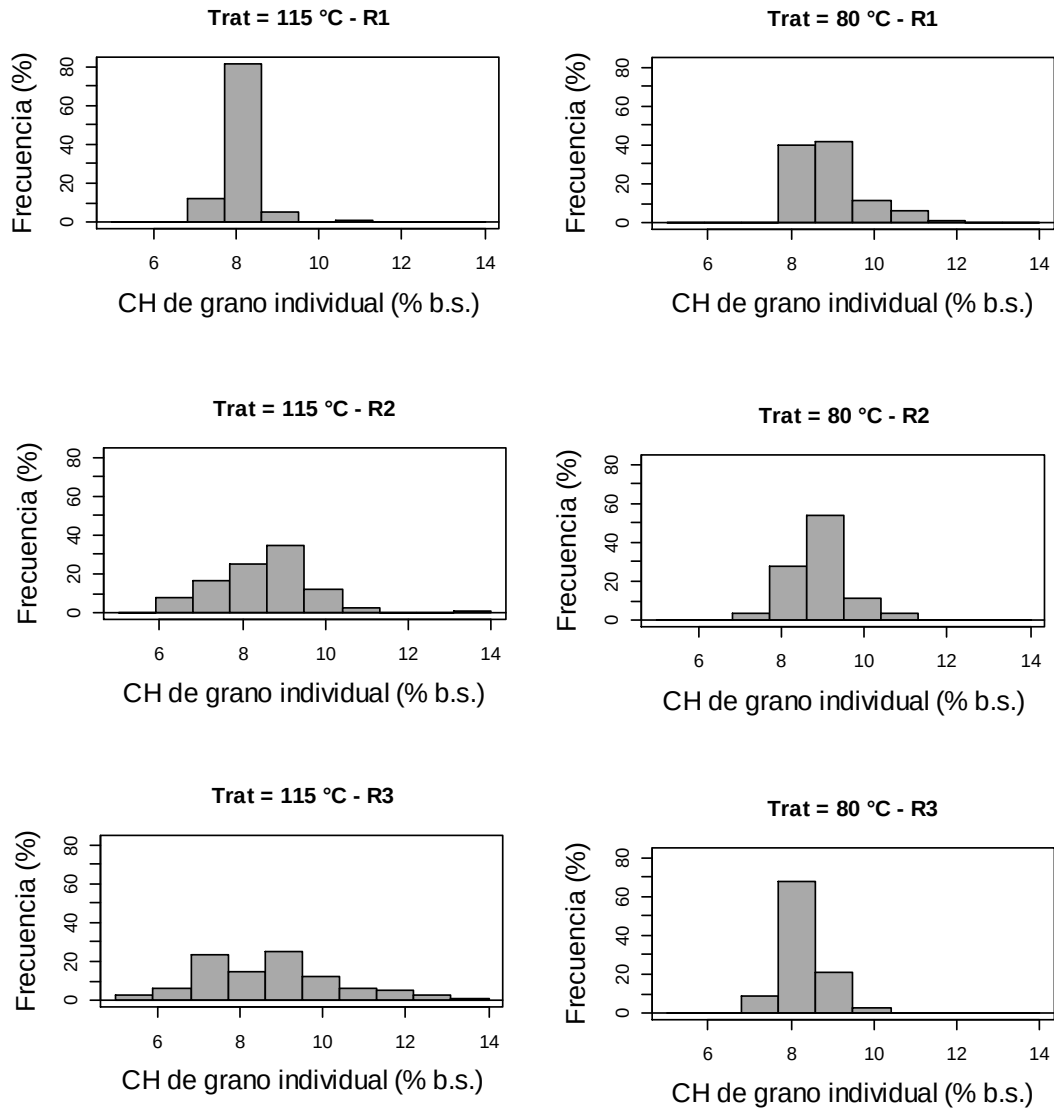


Figura 16. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual para cada una de las repeticiones de los tratamientos de secado realizados a diferentes temperaturas

Por otro lado, en la Figura 17 se puede apreciar que en general la dispersión de humedad de estos tratamientos de secado para alcanzar diferentes humedades finales luego del secado fue menor que en el ensayo de efecto del tratamiento térmico.

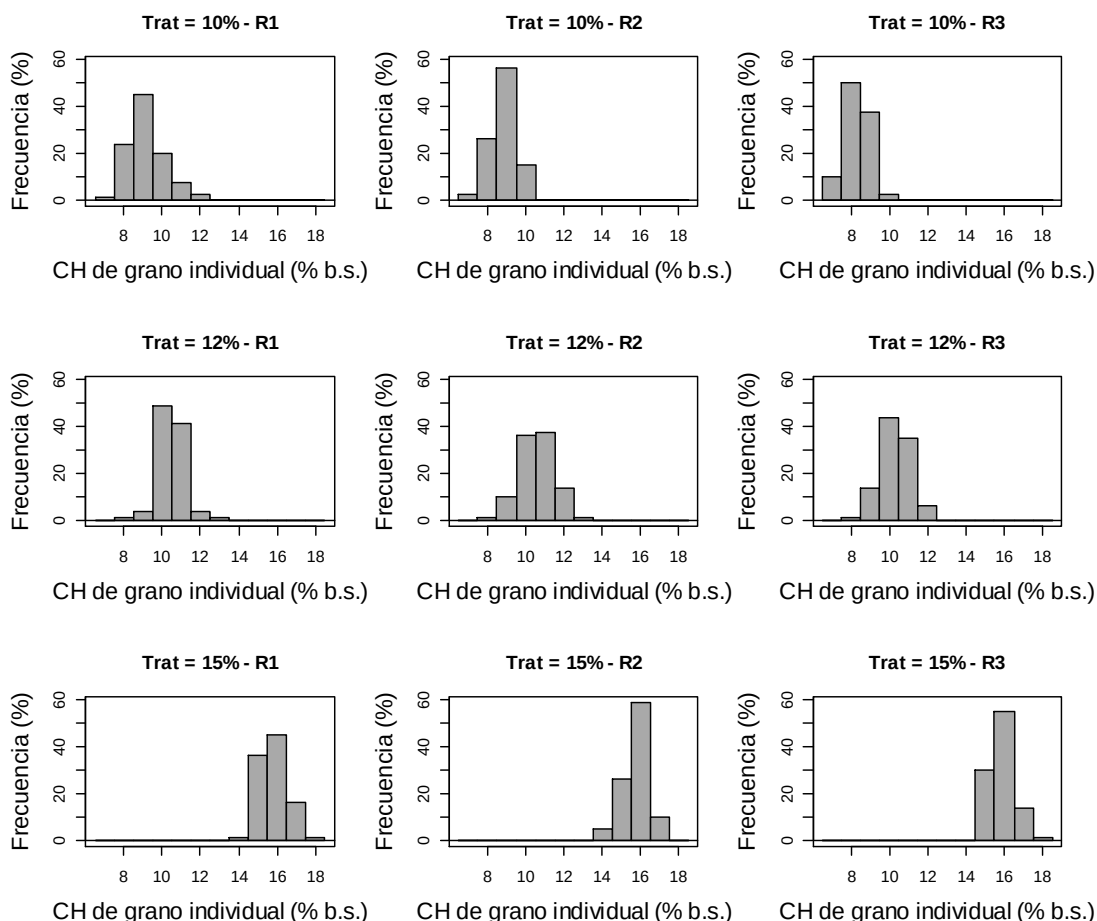


Figura 17. Frecuencia porcentual para cada nivel de humedad de grano individual para cada una de las repeticiones de los tratamientos de secado realizados para alcanzar diferentes humedades finales

En la Figura 18 se aprecia el efecto que generó la dispersión de humedad de grano individual del poroto de soja en la eficiencia de extracción de aceite por medio de E-P para todos los tratamientos de secado evaluados. Los tratamientos 1 y 2 corresponden al secado realizado a 115 y 80 °C, respectivamente, para alcanzar un contenido de humedad final de alrededor de 10% (b.s.), mientras que los tratamientos 3, 4 y 5, corresponden a los tratamientos de secado hasta alcanzar las humedades finales de alrededor de 10, 12 y 15% (b.s.), respectivamente. La dispersión de humedad de grano individual no generó un efecto mayor que el de la temperatura (tratamientos 1 y 2) y en el caso del tratamiento a 80 °C el SD de la eficiencia de extracción fue mayor. Por otro lado, para efecto de las humedades (tratamientos 3, 4 y 5) la

dispersión fue similar y por lo tanto, en este caso particular, sólo se podría atribuir el efecto de la humedad global del poroto de soja como el factor más importante que afectó la eficiencia de extracción de aceite en el expeller.

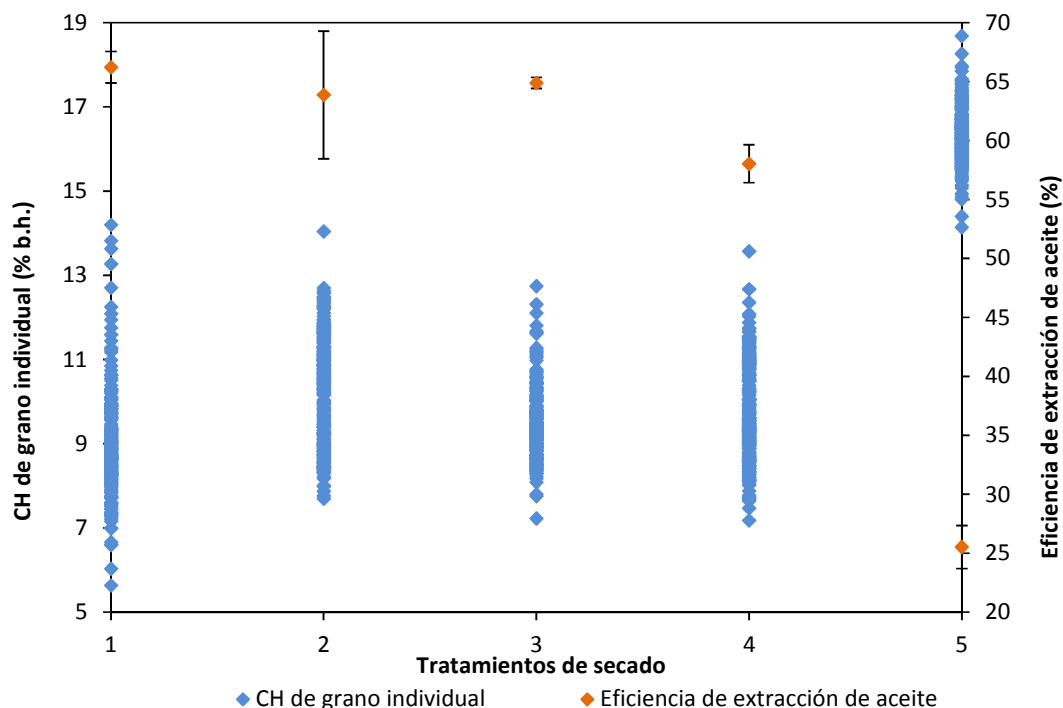


Figura 18. Variabilidad del contenido de humedad de grano individual para los diferentes tratamientos de secado de poroto de soja evaluados y eficiencia de extracción de aceite por E-P. Nota: CH es contenido de humedad. Las barras representan el SD de la eficiencia de extracción. Los tratamientos de secado 1 y 2 corresponden a los tratamientos a las temperaturas del aire de secado a 115 y 80 °C, respectivamente, y los tratamientos 3, 4 y 5 a los tratamientos de secado hasta alcanzar las humedades 10, 12 y 15% (b.s.), respectivamente

Aun cuando en este trabajo no se encontró una relación directa entre variabilidad de humedad de granos individuales y eficiencia de extracción, sería esperable que esta existiera. En tal sentido reducir la temperatura de secado podría ayudar a reducir la variabilidad de la humedad de granos individuales (Liu *et al.*, 1997) y por ende, mejorar la eficiencia de extracción. Por otra parte, almacenar el poroto de soja durante algunos días posteriormente al secado también puede contribuir a homogeneizar la humedad del producto luego de realizado el secado y previo a su procesamiento (Cardoso *et al.*, 2007).

5.6. CONCLUSIONES PARCIALES

El control del contenido de humedad del poroto de soja es importante para maximizar la extracción de aceite durante procesos de extrusado-prensado.

Se recomienda procesar poroto de soja que tenga niveles de humedad alrededor de 9-10% (b.s.) para lograr una mejor eficiencia de extracción de aceite por medio del proceso de extrusado-prensado.

En función de esto se puede decir que no se rechaza la hipótesis 1 “la eficiencia de extracción del aceite durante el extrusado-prensado de poroto de soja se ve reducida por el aumento en el contenido de humedad del poroto”.

La temperatura alcanzada durante los tratamientos de secado no presentó un importante efecto en la eficiencia de extracción de aceite.

Las diferentes temperaturas del aire de secado generaron una importante variabilidad en el contenido de humedad individual de los granos de soja. Sin embargo, esta variabilidad no se vio reflejada en la eficiencia de extracción de aceite por medio del proceso de extrusado-prensado.

6. *Capítulo III: Almacenamiento del expeller de soja*

6.1. INTRODUCCIÓN

El expeller de soja se caracteriza por ser un material higroscópico al igual que otras oleaginosas, es decir que absorbe o cede humedad del ambiente que lo rodea hasta alcanzar el equilibrio (Pixton, 1967). Si bien existe información respecto de las propiedades higroscópicas de la harina de soja (Pixton y Warburton, 1975), no existe información específica para el expeller de soja, siendo que este subproducto presenta una composición química diferente a la harina, en la cual la extracción se realiza utilizando solventes orgánicos que logran un contenido de aceite residual $<1\%$.

La humedad relativa de equilibrio (HRE) determina la máxima humedad relativa (HR) del aire en el espacio intersticial que puede alcanzarse para un cierto contenido de humedad del grano o subproducto almacenado. Por otro lado, el contenido de humedad de equilibrio (CHE) denota el contenido de humedad que el grano o subproducto alcanza cuando es expuesto a ciertas condiciones de temperatura y HR (Brooker *et al.*, 1992; Maciel *et al.*, 2015; Pixton y Warburton, 1971).

El CHE depende de la HR del espacio intergranario, de la temperatura del ambiente y de la composición del material (especialmente del contenido de aceite), entre otros (Bartosik, 2003; Brooker *et al.*, 1992; Chen, 2000; Giner y Gely, 2005; Jayas y Mazza, 1991).

Se sabe que el contenido de aceite afecta las relaciones de humedad. Los granos de oleaginosas tienen un mayor contenido de aceite que los cereales y por lo tanto absorben menos agua a una misma HR (Pixton y Warburton, 1971). Se sabe además que dentro de una misma especie oleaginosa, la HRE cambia con variaciones en el contenido de aceite (Maciel *et al.*, 2018; Maciel *et al.*, 2015).

Si bien el contenido de aceite del expeller de soja (según la normativa vigente por debajo de 9%) (SAGPyA, 1999) es inferior al de las oleaginosas, este puede ser muy variable (entre 5,5 y 15,5%), como se mostró en el Capítulo I. Por lo tanto es importante conocer el efecto que tiene el contenido de aceite residual en las relaciones de humedad de equilibrio para poder establecer las condiciones seguras de almacenamiento de este subproducto.

Existen varios modelos empíricos que permiten predecir las relaciones HRE/CHE en función de un conjunto de constantes específicas del producto, de la temperatura y de la humedad del producto. Los modelos empíricos nos permiten obtener las isothermas de sorción (adsorción, desorción o combinados) para diferentes granos o subproductos. Estos modelos son utilizados en el estudio de los procesos de secado, acondicionamiento y almacenamiento de granos y subproductos (Bartosik, 2003). El modelo empírico utilizado con mayor frecuencia para especies oleaginosas, particularmente con alto contenido de aceite y de proteínas es el modelo de Halsey Modificado (Ecuación 11) (ASAE, 2007; Chen y Morey, 1989; Iglesias y Chirife, 1976a, 1976b; Maciel *et al.*, 2015).

En trabajos previos del grupo de trabajo se desarrolló un modelo que surgió como una derivación del modelo de Halsey Modificado, denominado modelo de Halsey Mejorado (Ecuación 12). En este modelo se incorporó el contenido de aceite como un factor para mejorar la predicción del CHE para semillas de girasol con contenido de aceite variable (Maciel *et al.*, 2018) por lo que se decidió ajustar para expeller de soja este modelo de Halsey Mejorado. El modelo de Halsey Mejorado tiene como objetivo reconocer el efecto del contenido de aceite en la relación de equilibrio de humedad.

$$CH = \left[-\frac{\exp(Ao+Bo \times T)}{\log HR} \right]^{(1/Co)} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$CH = \left[\frac{\exp(Ao+Ap \times CA + Bo \times T + Bp \times CA \times T)}{\log HR} \right]^{(1/Co+Cp \times CA)} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde: CH es el contenido de humedad (% b.s.), Ao, Bo, Co, Ap, Bp y Cp son constantes específicas del producto, T es la temperatura (°C), HR es la humedad relativa (decimal) y CA es el contenido de aceite (% b.s.).

Los modelos de CHE y los parámetros son una fuente de información importante para el estudio de los procesos de secado, acondicionamiento y almacenamiento de granos y subproductos (Bartosik, 2003). La HR y la temperatura son los dos factores principales que deben controlarse durante el almacenamiento de semillas o subproductos para preservar la calidad e inocuidad. Los hongos de almacenamiento se desarrollan en general a una HR superior al 70% (Lacey *et al.*, 1980) y en un amplio rango de temperaturas. De

manera análoga, en general se acepta que el crecimiento de hongos durante el almacenamiento prácticamente se detiene cuando la HR se mantiene por debajo de 70% (Katta y Bullerman, 1995; Magan *et al.*, 2003; Suleiman *et al.*, 2013). El contenido de humedad de almacenamiento seguro (CHAS) es aquel que impide el desarrollo de hongos durante el almacenamiento y, como consecuencia, previene daños en semillas o subproductos almacenados. El CHAS está determinado por una HRE del aire intersticial que rodea al producto almacenado de 67% (Abadia y Bartosik, 2013; Bartosik, 2003; Maciel *et al.*, 2018). Por su parte, el almacenamiento a humedades superiores (ej. 75%) resultan en deterioro y pérdida de calidad del producto asociadas a un rápido desarrollo de hongos y un aumento de la temperatura durante el almacenamiento como resultado de un aumento de la actividad metabólica (Pixton, 1967).

Cuando la temperatura aumenta, el crecimiento de hongos, el desarrollo de insectos y cambios químicos, como la oxidación, también aumentan (Fleurat-Lessard, 2017). Por esta razón, el contenido de humedad, la temperatura y el tiempo son los tres factores más importantes que afectan la capacidad de almacenamiento de la soja y sus productos derivados.

Una vez que los hongos están activos (es decir, que el producto se almacena por encima del CHAS), la respiración aumenta drásticamente afectada por la humedad y temperatura, acelerando el proceso de deterioro de la mercadería (Bern *et al.*, 1998; Brooker *et al.*, 1992; Ochandio *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2014). La respiración de microorganismos está asociada con la descomposición de carbohidratos, grasas y otros compuestos de los productos almacenados, y generalmente se cuantifica como pérdida de materia seca (Bern *et al.*, 1998; Rukunudin *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2014).

Para poder realizar un almacenamiento seguro del expeller de soja es necesario conocer previamente las curvas de humedad de equilibrio y a partir de ellas poder determinar el CHAS, las tasas de respiración en este producto y la consecuente pérdida de materia seca. Esta es una importante información de base que aún no está disponible para diseñar estrategias de almacenamiento del expeller basadas en datos científicos.

Por otra parte existe una práctica común en la industria que consiste en el agregado de gomas al expeller. Las gomas se extraen del aceite y como no tienen un mercado particular, es una práctica habitual que las plantas de E-P las vuelvan a agregar al expeller diluidas en agua. Sin embargo, se tiene evidencia que esta práctica resulta en un incremento del contenido de humedad del expeller de hasta 3 o 4 puntos porcentuales. Claramente esta práctica de incorporar gomas y agua al expeller puede resultar en incrementar el nivel de riesgo de almacenamiento del subproducto, aunque se desconoce la magnitud del mismo.

Finalmente, el almacenamiento de granos y subproductos en silo bolsa es una práctica muy habitual en Argentina (Bartosik, 2012). El expeller de soja podría ser almacenado en silo bolsas en condiciones de hermeticidad (condiciones restrictivas de O_2), lo cual tendría beneficios para su conservación (Navarro, 2006). Sin embargo, estos beneficios se obtienen a partir de cierto nivel de humedad, lo cual resta aun de ser identificado.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 6) Determinar las isotermas de sorción de agua del expeller de soja con diferente contenido de aceite²
- 7) Evaluar la tasa respiratoria en expeller de soja con diferente contenido de aceite²
- 8) Evaluar el efecto del almacenamiento hermético y convencional sobre parámetros de calidad del expeller de soja a diferentes condiciones de humedad
- 9) Evaluar el efecto del agregado de gomas sobre parámetros de calidad del expeller de soja almacenado en sistema hermético y convencional

² Como resultado de las investigaciones implicadas en los objetivos 6 y 7 se publicó el siguiente trabajo de investigación con referato: Maciel G., de la Torre D.A., Cardoso L.M., Cendoya M.G, Wagner J.R., Bartosik R.E. 2020. Determination of safe storage moisture content of soybean expeller by means of sorption isotherms and product respiration. Journal of Stored Products Research. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101567>

6.3. MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1. Condiciones de almacenamiento seguro de expeller de soja

6.3.1.1. Determinación de isotermas de sorción

6.3.1.1.1. Selección y preparación de las muestras de expeller de soja

Se utilizaron muestras de expeller de soja obtenidas de diferentes plantas E-P durante la recolección descrita en el punto 4.3.1. del Capítulo I. Se seleccionaron tres muestras de expeller con diferente contenido de aceite residual de acuerdo con los resultados obtenidos luego del análisis de composición química realizado con NIRS (DS2500, FOSS, Dinamarca) como se describió en la sección 4.3.3.2.1.1. del Capítulo I. Las muestras seleccionadas presentaron un contenido de aceite residual bajo, intermedio y alto, (E-024, E-010 y E-014) con valores de aceite residual de 6,2; 9,6 y 15,3%, respectivamente. Cada muestra se molió, tamizó y luego se almacenó en doble bolsa hermética a 4 °C hasta el momento de la experimentación.

Cada muestra de expeller de soja con diferente nivel de aceite se dividió en dos sub-muestras para ser utilizadas en dos ensayos diferentes. Una de las sub-muestras se utilizó para obtener las relaciones de HRE/CHE y a continuación ajustar los modelos empíricos de sorción. El otro conjunto de sub-muestras se utilizó para determinar la tasa de respiración y la actividad microbiológica presente en el expeller de soja, como se detalla más adelante.

6.3.1.1.2. Procedimiento experimental para determinar las relaciones de CHE/HRE

Las muestras de expeller (10 g) molidas y tamizadas se colocaron en recipientes metálicos, y siguiendo un diseño completamente aleatorizado, se asignaron por triplicado a cuatro recipientes herméticos con diferentes soluciones de glicerol en concentraciones necesarias para generar HR de 60, 65, 70 y 75% (Sun, 2002). Un sensor de HR y temperatura (Ibutton, EE.UU.) fue colocado en cada uno de los recipientes herméticos junto con la muestra y

se colocaron en una cámara con control de temperatura a 10 °C durante cinco semanas hasta alcanzar el equilibrio (de acuerdo a lo determinado en el Anexo VI). El procedimiento se repitió incubando las muestras durante cuatro semanas a 20 °C. Luego del transcurrir el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio, se midió el CHE de cada una de las sub-muestras mediante el método de estufa descrito en la sección 2.3. del Anexo VI (ASAE, 2003).

6.3.1.1.3. Ajuste y comparación de modelos de sorción

Los modelos de Halsey Modificado y Halsey Mejorado se evaluaron para determinar cuál de ellos es el que permite realizar una mejor predicción del CHE del expeller de soja con diferente contenido de aceite, a dos temperaturas y cuatro HR como se indicó anteriormente.

Para el ajuste de los modelos y la estimación de los parámetros de las ecuaciones se utilizó el paquete no lineal de efectos mixtos (nlme) del software RStudio (R Core Team, 2018). Para comparar y seleccionar el modelo que mejor ajusta se utilizaron los siguientes estadísticos:

- El criterio de información de Akaike (AIC): es una medida de la calidad de un modelo estadístico para un conjunto dado de datos. AIC considera la compensación entre la bondad de ajuste del modelo y la complejidad del modelo. El mejor modelo es el que tiene el valor más bajo de AIC (Akaike, 1974), y se define mediante la siguiente ecuación:

$$AIC = (-2) \times \log Lik + 2 K$$

Ecuación 13

Donde: K es el número de parámetros independientes ajustados del modelo, Lik es el valor de la máxima probabilidad estimada de los parámetros (log Lik hace referencia al logaritmo de ese valor).

- Criterio de información bayesiano (BIC): es un criterio para la selección de modelos entre un conjunto finito de modelos (Chen y Chen, 2008). Al igual que el AIC, el modelo con el valor más bajo de BIC es considerado como el que mejor explica los datos, con el menor número de parámetros. El BIC se define por la siguiente ecuación:

$$BIC = (-2) \times \log Lik + \log N \times K$$

Ecuación 14

Donde: N es el número de datos

Además, se utilizó la desviación relativa media (MRD), que es uno de los estadísticos más utilizados para comparar el rendimiento de los modelos (Chen, 2000; Chen y Morey, 1989).

$$MRD = \frac{100}{N} \times \sum \frac{|y - \hat{y}|}{y}$$

Ecuación 15

Donde: y son los valores medidos, $\hat{y}$ son los valores predichos por el modelo y N es el número de datos

6.3.1.2. Ensayo de respiración y actividad microbiológica

6.3.1.2.1. Acondicionamiento de las muestras

Las sub-muestras seleccionadas en la sección 6.3.1.1.1. se acondicionaron a HRs de 70, 75 y 80%. Para ello, se colocaron 10 g de expeller en recipientes metálicos previamente desinfectados, siguiendo un diseño completamente aleatorizado por triplicado, los cuales a su vez se colocaron en recipientes herméticos con una solución de glicerol para generar las diferentes HRs y se incubaron en una cámara a 20 °C durante cuatro semanas. Una vez estabilizadas las sub-muestras se midió el contenido de humedad de las mismas por triplicado por medio del método de estufa (ASAE, 2003). Al finalizar el período de estabilización se extrajeron las muestras para realizar el análisis de la actividad microbiológica y el ensayo de respiración.

6.3.1.2.2. Ensayo de respiración

El ensayo de respiración consideró un diseño completamente aleatorizado, siendo los tratamientos el contenido de aceite (6,2, 9,6 y 15,3% b.s.) y la humedad de equilibrio (70, 75 y 80%), considerándose 3 repeticiones para cada combinación. Se colocó 1 g de cada sub-muestra de expeller de soja (obtenida según lo detallado en la sección 6.3.1.2.1.) en un tubo de vidrio (vacutainer) (Brecton Dickinson Vacutainer System) con un volumen conocido (11,23 ml de capacidad), y posteriormente se selló con un tapón/septo de

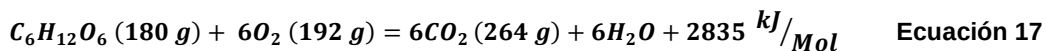
goma. El espacio de cabeza (el volumen del espacio vacío) se midió llenando el tubo con agua destilada, pesando la cantidad de agua incorporada y calculando el volumen asumiendo una densidad del agua de 1 g/ml a 20 °C (Tanaka *et al.*, 2001). Los vacutainers sellados herméticamente se colocaron en una cámara a 20 °C durante 46 días después de lo cual se midió la composición del aire (concentración de CO₂ y O₂) utilizando un analizador de gases (Check Mate3 - O₂ (Zr) CO₂ - 100%, DanSensor, Dinamarca).

La tasa de respiración (RCO₂) se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$RCO_2 = \frac{1}{1000} \times P \times V \times \frac{MCO_2}{R \times T} \times \frac{1}{MS} \times \frac{\Delta[CO_2]}{t} \quad \text{Ecuación 16}$$

Donde, RCO₂ es la tasa de respiración expresada en mg de CO₂ / kg de materia seca por día, Δ [CO₂] es la diferencia de concentración de CO₂ (antes y después del almacenamiento) expresada en ppm (se consideró como concentración inicial de CO₂ 400 ppm), t es el tiempo almacenamiento (46 días), P es la presión atmosférica en atm (1 atm), V es el volumen de aire dentro del vacutainer expresado en litros (0,01123 l), MCO₂ es la masa molar del CO₂ (44,01 g / mol), R es la constante general de los gases ideales $\left(0,08205746 \frac{l \times atm}{K \times mol}\right)$, T es la temperatura de almacenamiento en K (293 K) y MS es la materia seca de la muestra expresada en kg.

Varios autores (Bern *et al.*, 2002; Saul y Steele, 1966; Steele, 1967; Steele *et al.*, 1969) han modelado la respiración total de una masa de grano en condiciones aeróbicas en función de la oxidación de la glucosa de la siguiente manera:



De acuerdo con la Ecuación 17, el consumo de 180 g de glucosa libera 264 g de CO₂, lo que implica que la liberación de 14,7 g de CO₂ representa un 1% de pérdida de materia seca. En base a esta relación, la respiración acumulada se utilizó para calcular la pérdida de materia seca de los tratamientos evaluados.

3.1.1.1. Recuentos de unidades formadoras de colonias

La determinación de UFC se realizó de la manera descripta en la sección 4.3.3.3.1. del Capítulo I.

6.3.2. Evaluación de condiciones de almacenamiento de expeller de soja

6.3.2.1. Obtención de muestras de expeller de soja y diseño experimental del ensayo

Se confeccionaron bolsas plásticas (utilizando plástico de silo bolsa y termosellando las juntas) de aproximadamente 0,4 m de ancho y 0,6 m de alto para contener aproximadamente 3 kg de material. A un grupo de bolsas (destinadas al tratamiento de almacenamiento hermético) se les incorporó un septo de goma para posteriormente realizar las mediciones de composición de gas. Los septos se fijaron con silicona para asegurar la hermeticidad en la unión con la bolsa.

El expeller de soja utilizado para realizar este ensayo se obtuvo de una planta de E-P de soja ubicada en la ciudad de Balcarce (denominada planta 11 en el Capítulo I). Se decidió trabajar con esta planta ya que la composición del expeller producido en dicha planta se encuentra en promedio dentro del rango adecuado de composición y características de calidad (de acuerdo a los resultados obtenidos en el Capítulo I), y por lo tanto, se consideró representativo para realizar este ensayo.

Se consideró un diseño en bloques (tres) con parcelas divididas. Los efectos a evaluar fueron sistema de almacenamiento (hermético y convencional), gomas (con y sin agregado de gomas), nivel de humedad (6, 9 y 12% b.h.) y tiempo de almacenamiento (28, 56, 112 y 189 días).

Se partió de una muestra homogénea de 300 kg de expeller de soja la cual se dividió en 6 parcelas principales, aleatorizando en tres de ellas el agregado de gomas. Las gomas fueron incorporadas junto con agua destilada (cantidad reducida para no superar el nivel de humedad más bajo que se evalúa) por medio de un sistema de aspersión dentro de una mezcladora. Cada parcela se dividió en 3 sub-parcelas que se acondicionaron, mediante el agregado de

agua destilada, a las humedades que se evaluaron (6, 9 y 12% b.h.). El agua destilada fue agregada por aspersión dentro de una mezcladora. Seguidamente, cada sub-parcela se dividió en 9 sub-sub-parcelas que se colocaron en las bolsas plásticas. Una de estas 9 sub-sub-parcelas fue aleatoriamente designada como muestra control, y a las restantes 8 sub-sub-parcelas se les asignó un tratamiento al azar, que se obtuvo mediante la combinación de un tiempo de almacenamiento (t_1 , t_2 , t_3 y t_4 correspondiendo a 28, 56, 112 y 189 días, respectivamente) y de un sistema de almacenamiento (hermético o convencional). Las bolsas asignadas al sistema de almacenamiento hermético fueron termoselladas y posteriormente se les hizo un test de presión para asegurar la hermeticidad de las mismas, según la metodología descrita por Cardoso *et al.* (2012). En breve, el método para evaluar hermeticidad consistió en conectar, a través del septo una bomba de vacío a la bolsa herméticamente sellada y generar una presión negativa de 200 Pa (medida mediante manómetro digital conectado al interior de la bolsa). Una vez alcanzados los 200 Pa de presión negativa se cerró la válvula de conexión a la bomba y se midió el tiempo que tardó en recuperar la mitad de la presión (-100 Pa). De acuerdo a Navarro (1998), un sistema es suficientemente hermético si el tiempo de caída de presión es de 3 minutos o más. Todas las bolsas consideradas para evaluar los efectos del sistema hermético de almacenamiento superaron este tiempo de caída de presión. Por su parte, las bolsas destinadas para evaluar el almacenamiento convencional fueron dejadas abiertas en su parte superior, utilizando la bolsa solamente como un recipiente de almacenamiento.

Cada repetición se consideró como un bloque ya que no fue posible procesar todas las muestras un mismo día, por lo tanto las repeticiones fueron realizadas con una semana de diferencia.

Las bolsas con las muestras correspondientes objeto de estudio se almacenaron en una cámara especialmente acondicionada con control de temperatura a 20 °C, durante el tiempo asignado para cada caso.

6.3.2.2. Análisis de composición y calidad del expeller de soja almacenado

6.3.2.2.1. Determinación de color

El color se midió en las muestras de expeller en todos los tiempos de almacenamiento evaluados siguiendo la misma metodología que la descrita en el punto 1.3.3.1.1. del Capítulo I.

6.3.2.2.2. Composición del expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano

El contenido de humedad, de proteína, de aceite residual, de fibras y de cenizas del expeller de soja en todos los tiempos de almacenamiento evaluados se determinó por medio de NIRS siguiendo la metodología descrita en la sección 4.3.3.2.1.1. del Capítulo I.

6.3.2.2.3. Acidez del aceite residual del expeller de soja

El análisis de acidez del aceite residual presente en las muestras almacenadas se realizó según la metodología descrita en la sección 4.3.3.2.2.1. del Capítulo I. En este caso se analizaron sólo las muestras correspondientes al tratamiento control (inicial) y al t4, es decir luego del máximo tiempo de almacenamiento evaluado, para todas las humedades evaluadas. No se hicieron determinaciones de acidez en las muestras intermedias (t1, t2 y t3) debido a los costos y tiempos asociados a las extracciones de aceite previas a la determinación y al uso de los reactivos necesarios para su determinación.

6.3.2.2.4. Recuentos de unidades formadoras de colonias

La determinación de UFC se realizó en las muestras de expeller obtenidas en todos los tiempos de almacenamiento evaluados de la manera descrita en la sección 4.3.3.3.1. del Capítulo I.

6.3.2.2.5. Micotoxinas en el expeller de soja

La detección y cuantificación de micotoxinas en el expeller se realizó de la manera descrita en la sección 4.3.3.3.3. del Capítulo I. En este caso se analizaron sólo las muestras correspondientes al tratamiento control (inicial) y al t₄, es decir luego del máximo tiempo de almacenamiento evaluado, para todas las humedades evaluadas. No se realizaron las determinaciones en las muestras intermedias (t₁, t₂ y t₃) debido a los costos asociados a la determinación.

6.3.2.2.6. Evolución de gases (O₂ y CO₂)

Se asumió que la condición inicial fue de 21% de O₂ y 400 ppm de CO₂ (composición atmosférica típica). La medición de la evolución del consumo de O₂ y de la generación de CO₂ se realizó en todas las bolsas herméticas cada 15 días hasta el momento de apertura de las mismas con un analizador de gases portátil Checkpoint (DanSensor, Dinamarca) para todos los tiempos de almacenamiento evaluados. La medición se realizó por medio de una perforación en el septo colocado en la bolsa para tal fin y luego de la medición, se selló la micro perforación del septo con sellador de silicona.

6.3.3. Análisis estadístico

Los ajustes y comparaciones de los modelos de humedad de equilibrio para el ensayo de almacenamiento seguro se llevaron a cabo utilizando los estadísticos descritos anteriormente (sección 6.3.1.1.3. del presente Capítulo). Las comparaciones de las tasas de respiración se realizaron con modelos de mínimos cuadrados lineales generalizados mediante el software estadístico RStudio (versión 0.99.903) (R Core Team, 2018), utilizando el paquete "emmeans" de "R" para realizar las comparaciones múltiples de medias ($p < 0,05$).

Para analizar el efecto de las condiciones de almacenamiento evaluadas sobre parámetros de composición y calidad del expeller de soja se ajustaron modelos lineales con efectos mixtos. Se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias ($p < 0,05$) para comparar los diferentes tratamientos

aplicados según el diseño en parcelas sub-sub-divididas y para ello se utilizaron los paquetes “nlme” y “emmeans” del software RStudio.

6.4. RESULTADOS

6.4.1. Condiciones seguras de almacenamiento del expeller de soja

6.4.1.1. Isotermas de sorción del expeller de soja

6.4.1.1.1. Contenido de humedad de equilibrio del expeller de soja

La Tabla 17 muestra los pares de datos de CHE/HRE obtenidos para expeller de soja con diferente contenido de aceite residual para las dos temperaturas evaluadas (10 y 20 °C), los cuales se utilizaron para ajustar los modelos empíricos de Halsey Modificado y Halsey Mejorado.

Tabla 17. Humedad relativa de equilibrio y contenido de humedad de equilibrio a diferentes temperaturas para el expeller de soja con diferente contenido de aceite

CAe (%)	HRE (%)	CHE (% b.s.)	
		10 °C	20 °C
6,2	65	11,5 ± 0,13	11,4 ± 0,50
	70	14,5 ± 0,53	13,7 ± 0,33
	75	17,7 ± 0,74	16,4 ± 0,41
	80	21,9 ± 1,64	19,5 ± 0,69
9,6	65	11,7 ± 0,17	11,7 ± 0,31
	70	14,3 ± 0,40	13,6 ± 0,17
	75	17,0 ± 0,65	15,9 ± 0,36
	80	21,3 ± 1,62	19,0 ± 0,55
15,3	65	10,6 ± 0,10	10,5 ± 0,28
	70	13,5 ± 0,45	12,7 ± 0,28
	75	16,3 ± 0,86	15,3 ± 0,34
	80	20,3 ± 1,53	18,1 ± 0,56

Nota: CAe es el contenido de aceite del expeller de soja, HRE es la humedad relativa de equilibrio y CHE es el contenido de humedad de equilibrio. Los valores presentados son el promedio de tres repeticiones ± el desvío estándar

6.4.1.1.2. Obtención de parámetros de los modelos de predicción de isotermas de sorción de expeller de soja

Los parámetros Ao, Bo y Co del modelo de Halsey Modificado (Ecuación 11) para cada uno de los tres contenidos de aceite evaluados se muestran en la Tabla 18. Al ajustar el modelo de Halsey Mejorado (Ecuación 12), se encontró

que los parámetros Ap (p = 0,4822), Bp (p = 0,8123) y Cp (p = 0,7695) no fueron significativos, por lo que fueron eliminados para obtener un modelo simplificado (Ecuación 18). Los parámetros de dicho modelo se muestran en la Tabla 18, junto con los estadísticos MRD, AIC y BIC.

$$CH = \left[\frac{\exp(Ao + Ap \times CA + Bo \times T)}{\log HR} \right]^{(1/Co)} \quad \text{Ecuación 18}$$

Donde: CH es el contenido de humedad (% b.s.), Ao, Bo, Co y Ap son constantes específicas del producto, T es la temperatura (°C), HR es la humedad relativa (%) y CA es el contenido de aceite (% b.s.).

Tabla 18. Parámetros y estadísticos utilizados de los modelos de Halsey Modificado y de Halsey Mejorado para predecir las isotermas de sorción del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual

Modelo	CAe (%)	Parámetros				AIC	BIC	MRD
		Ao	Ap	Bo	Co			
Halsey Modificado	6,2	2,145***	-	-0,009**	1,152***	62,7	67,4	1,883
	9,6	2,333***	-	-0,009**	1,227***	57,5	62,2	1,722
	15,3	2,025***	-	-0,008**	1,145***	59,5	64,2	1,905
Halsey Mejorado	6,2 a 15,3	2,386**	-0,010***	-0,008 ⁺	1,220***	144,8	172,1	1,096

Nota: CAe es el contenido de aceite del expeller de soja. Niveles de significancia: +: 0,1, **: p<0,001, ***: p<0,0001

6.4.1.1.3. Comparación entre el modelo de Halsey Modificado y el modelo de Halsey Mejorado

Los residuales de ambos modelos, Halsey Modificado y Halsey Mejorado se muestran en las Figuras 19 y 20. En ambos casos se puede observar que no hay patrones de agrupación de los datos. Particularmente para el caso del modelo de Halsey Mejorado se obtuvieron los residuales sin modelar y modelando la heterogeneidad de varianzas como se puede ver en la Figura 20.

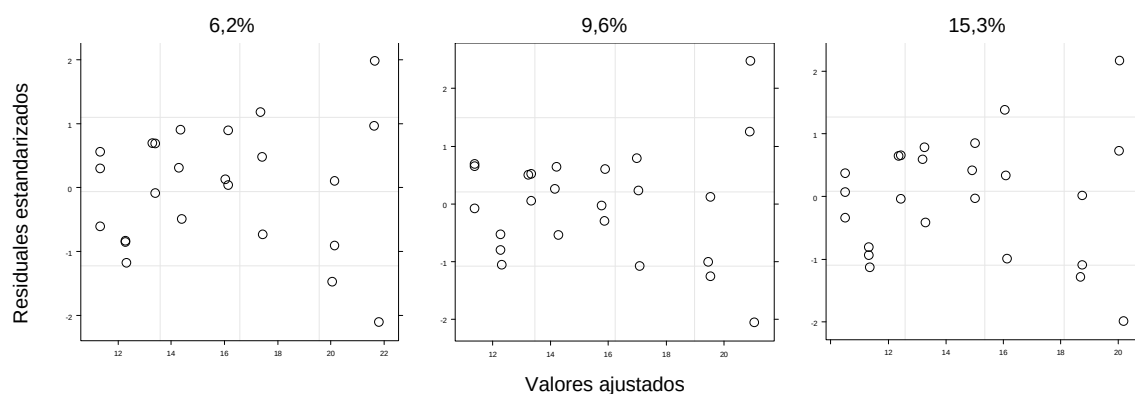


Figura 19. Residuales estandarizados del Modelo de Halsey Modificado versus valores ajustados (CHE % b.s.) para los tres contenidos de aceite residual evaluados

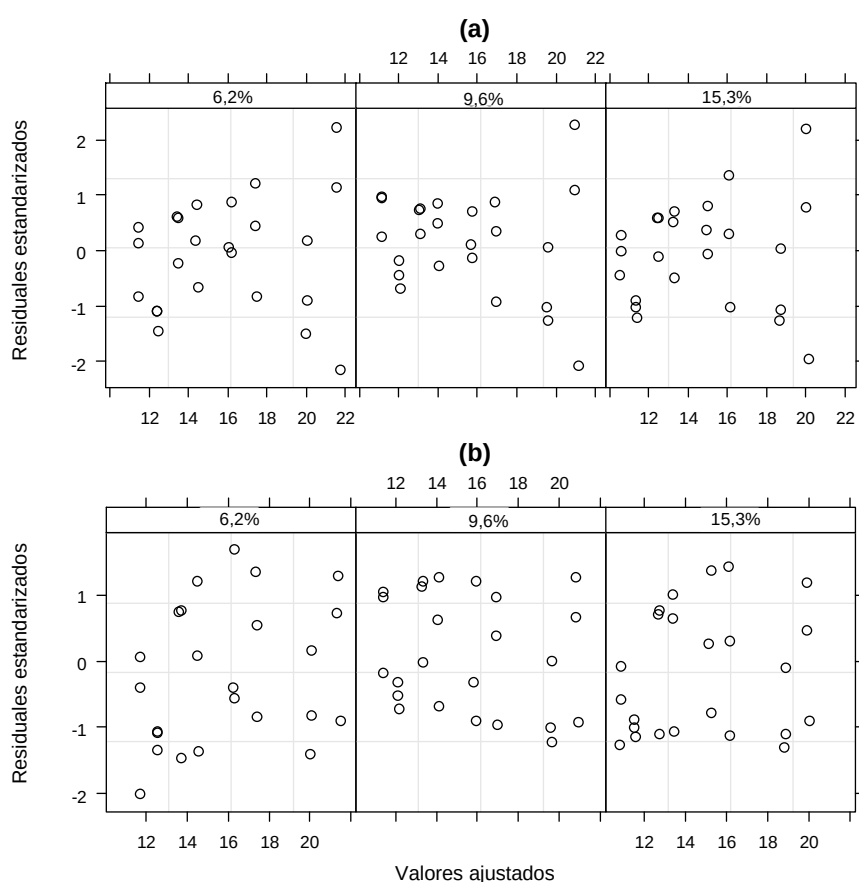


Figura 20. Residuales estandarizados del modelo de Halsey Mejorado versus los valores ajustados (CHE, % b.s.) para los tres contenidos de aceite residual evaluados, a) sin modelar la heterogeneidad de varianza, y b) modelando la heterogeneidad de varianza

La Figura 21 muestra los valores de CHE observados (símbolos) y los valores de CHE predichos utilizando el modelo de Halsey Mejorado (línea sólida negra), utilizando los parámetros de la Tabla 18 para 10 y 20 °C. Se puede

apreciar que el modelo de Halsey Mejorado predijo razonablemente bien las relaciones de humedad de equilibrio del expeller de soja con diferentes contenidos de aceite residual.

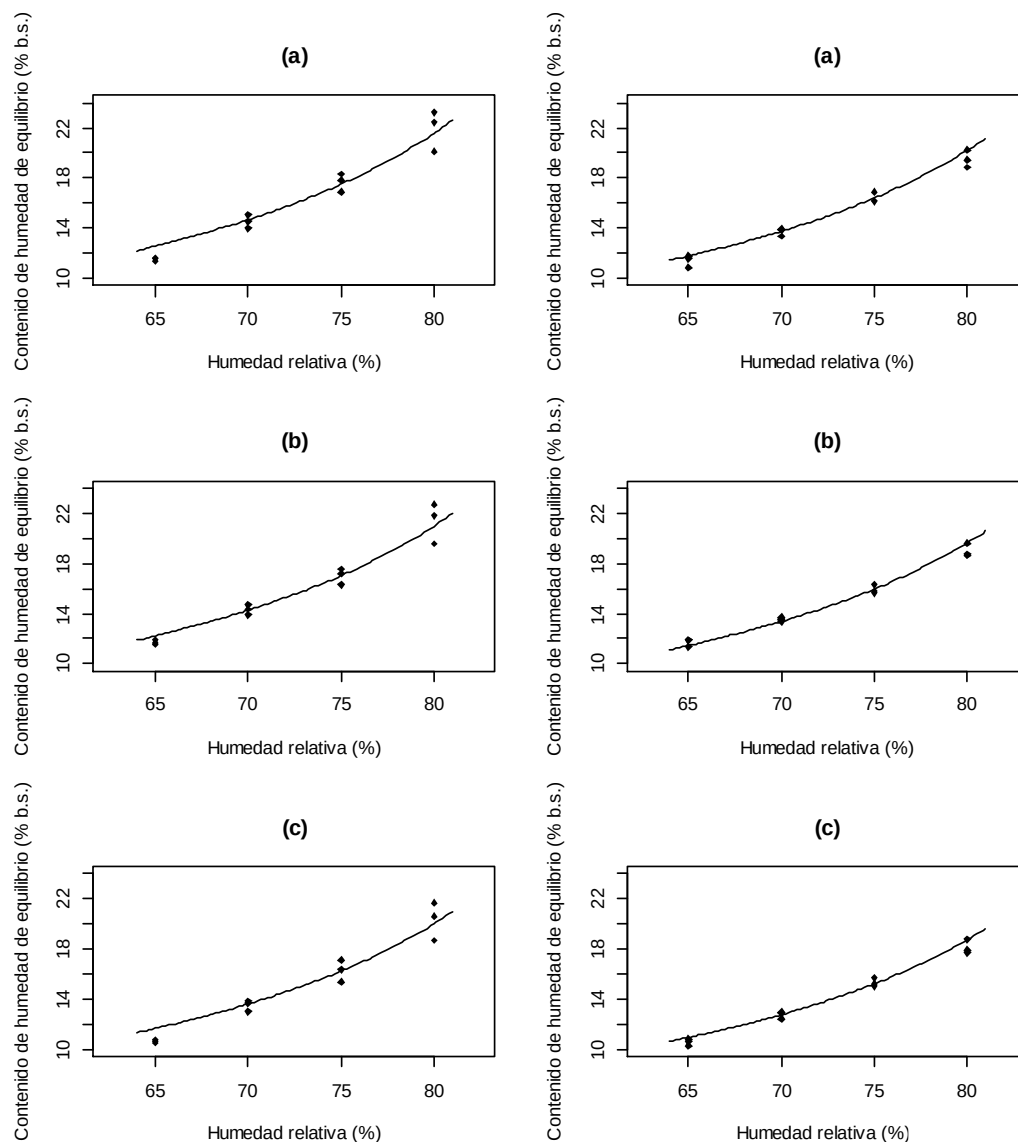


Figura 21. Valores de CHE observados (símbolos) y predichos con el modelo de Halsey Mejorado (línea negra continua) para a) 6,2%, b) 9,6%, c) 15,3% de aceite a 10 °C (izquierda) y a 20°C (derecha)

6.4.1.2. Respiración del expeller

Como se puede ver en la Tabla 19, la tasa respiratoria del expeller de soja aumentó en todos los casos cuando la HRE fue de 80%. A valores menores de

HRE no presentó diferencias estadísticamente significativas. Al comparar el efecto del contenido de aceite vemos que las muestras con un contenido de aceite de 9,6 y 15,3% (b.s.) presentaron una tasa respiratoria superior al nivel de aceite más bajo (6,2% b.s.).

Tabla 19. Tasa de respiración promedio para el expeller de soja con diferente contenido de aceite residual y diferentes condiciones de CHE/HRE a 20 °C

CAe (% b.s.)	HRE (%)	CHE (% b.s.)	Tasa respiratoria (mg CO ₂ /(kg MS d))
6,2	70	13,6	0,3 ± 0,00 ^{aA}
	75	15,2	0,6 ± 0,00 ^{aA}
	80	17,9	1,7 ± 0,00 ^{aB}
9,6	70	13,0	0,3 ± 0,31 ^{aA}
	75	15,4	0,3 ± 0,00 ^{aA}
	80	17,6	11,3 ± 0,30 ^{bB}
15,3	70	11,7	0,3 ± 0,33 ^{aA}
	75	14,3	0,4 ± 2,26 ^{aA}
	80	16,5	7,6 ± 2,67 ^{bB}

Nota: CAe es el contenido de aceite del expeller de soja, HRE es la humedad relativa de equilibrio y CHE es el contenido de humedad de equilibrio. Los valores presentados son los promedios de tres repeticiones ± el desvío estándar. Valores promedios con letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se comparan dentro de la misma HRE, y valores promedios con letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes cuando se comparan dentro del mismo CAe (p<0,05)

6.4.2. Almacenamiento del expeller de soja: análisis de composición y calidad del expeller de soja almacenado

En las siguientes secciones se muestran los resultados del ensayo de almacenamiento de expeller bajo diferentes condiciones de hermeticidad, contenidos de humedad y agregado de gomas.

6.4.2.1. Evolución de gases (O₂ y CO₂) durante el almacenamiento del expeller de soja

La concentración de los gases presentes en la atmósfera que rodea al producto almacenado herméticamente se aprecia en la Figura 22. En el caso del expeller de soja almacenado a humedad baja e intermedia (6 y 9% b.h.) no tuvo cambios en la concentración de gases a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento, independientemente del agregado de gomas. Por su parte, el

expeller almacenado a la mayor humedad (12% b.h.) manifestó importantes cambios en la composición de gases con y sin el agregado de gomas.

En la condición de mayor humedad de almacenamiento, el consumo de O_2 y la producción de CO_2 ocurrió más rápidamente que en las otras humedades, alcanzando un nivel de mínimo de O_2 y máximo de CO_2 cercanos a 13,5 y 2,5%, respectivamente para la condición de almacenamiento con el agregado de gomas (Figura 22-A), mientras que para la condición de almacenamiento sin el agregado de gomas la modificación de la atmósfera interna fue ligeramente mayor, llegando a valores de 9,5 y 2,7% de O_2 y CO_2 , respectivamente, como se muestra en la Figura 22-B. Los datos completos se muestran en el Anexo VII.

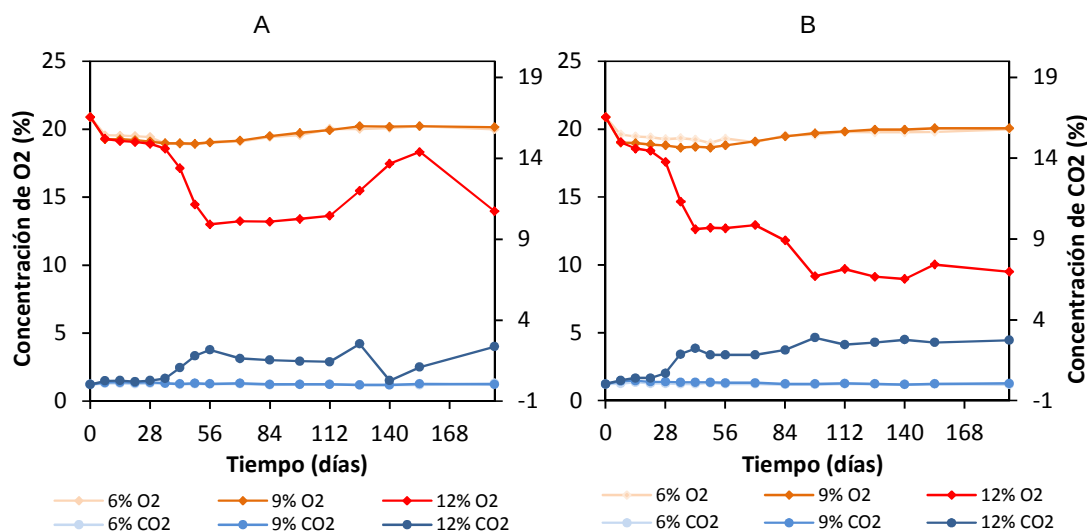


Figura 22. Evolución de la concentración de gases (O_2 y CO_2) para el expeller de soja almacenado herméticamente a tres humedades A) con gomas; B) sin gomas

6.4.2.2. Evolución del color del expeller almacenado

La Figura 23 muestra la evolución percibida en el parámetro L^* (luminosidad) a lo largo del almacenamiento para cada una de las condiciones evaluadas (humedades, agregado de gomas y sistema de almacenamiento). Los valores de L^* estuvieron entre 73,4 y 75,9, y es el parámetro que mayores cambios manifestó a los diferentes tiempos de almacenamiento evaluados. Se puede ver que en general en ambos sistemas de almacenamiento la luminosidad fue menor para los mayores niveles de humedad, tengan o no agregado de gomas.

El parámetro a^* tuvo un rango de valores entre 0,6 y 2,1, mientras que el b^* entre 24,0 y 28,3, y ambos parámetros no mostraron ninguna tendencia particular en el tiempo (los datos completos se muestran en el Anexo VIII).

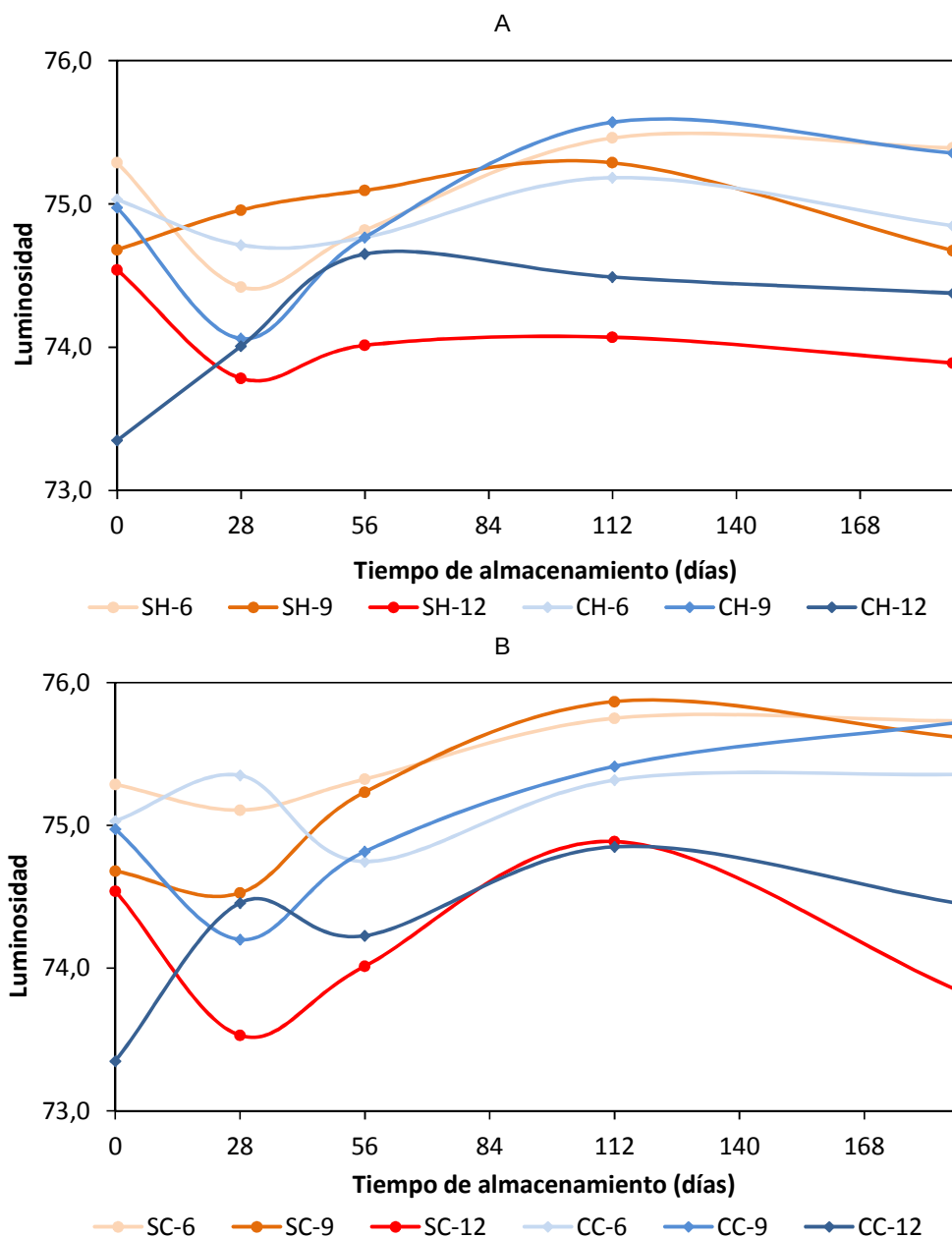


Figura 23. Evolución de la luminosidad en el color del expeller de soja, evaluado a diferentes tiempos de almacenamiento para los sistemas de almacenamiento A) hermético y B) convencional. La primera letra del código de las muestras indica C “con” y S “sin” agregado de gomas, la segunda letra indica el sistema de almacenamiento H “hermético” o C “convencional o no hermético”, y finalmente el número indica el contenido de humedad al cual fue acondicionado (6, 9 o 12% b.h.)

El parámetro L^* presentó diferencias significativas para los factores aplicados en la sub-parcela y en la sub-sub-parcela. De esta manera se observó que los factores TyAlm (que surge de la combinación del tiempo y sistema de almacenamiento) y contenido de humedad de almacenamiento presentaron un efecto significativo sobre el parámetro evaluado ($p=8,4e^{-08}$ y $p=0,0424$, respectivamente), no observándose interacciones entre los factores en estudio. La Figura 24 grafica las medias obtenidas durante el almacenamiento del expeller de soja para el parámetro de color L^* . En la Figura 24-A se observa el efecto del tratamiento TyAlm y en la Figura 24-B el efecto del contenido de humedad de almacenamiento (% b.h.).

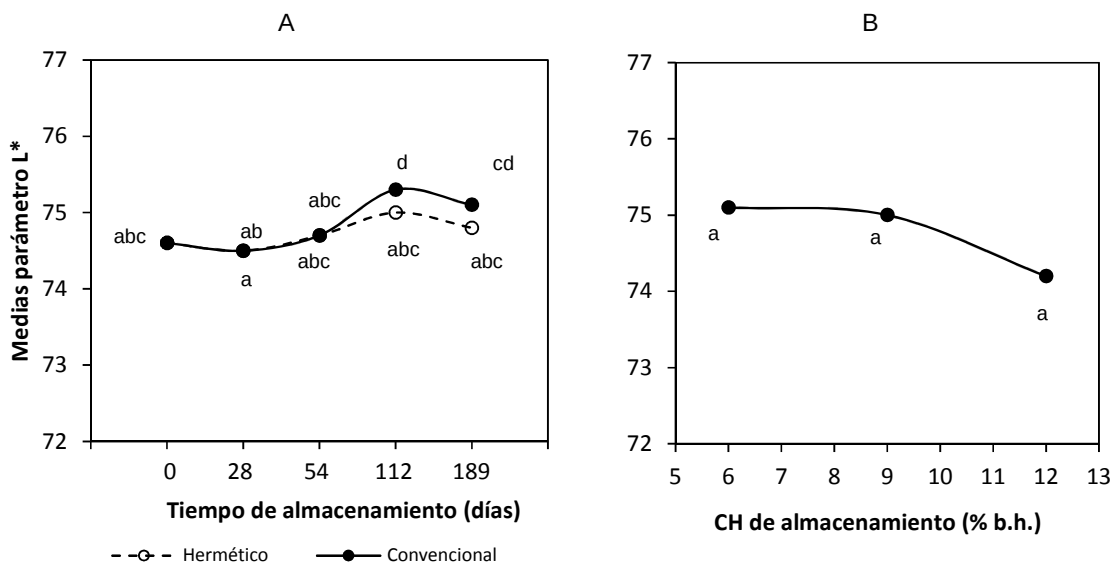


Figura 24. Gráfico de comparación de medias del parámetro L^* (luminosidad) del color para A) los tiempos de almacenamiento evaluados y B) el contenido de humedad (CH) de almacenamiento. Letras minúsculas iguales indican que las medias no son significativamente diferentes ($p<0,05$)

6.4.2.3. Composición del expeller de soja almacenado

La composición del expeller de soja al inicio y al final del almacenamiento bajo las condiciones evaluadas en el presente estudio no presentó diferencias significativas. En la Tabla 20 se muestran los valores promedios de composición para cada uno de los niveles de humedad evaluados (los datos para todos los tiempos de almacenamiento se muestran en el Anexo IX). La humedad alcanzada por el expeller en los diferentes tratamientos no se ajustó

completamente a la deseada, en particular para la humedad esperada de 12% (b.h.) (13,6% b.s.), donde se logró una humedad promedio de 11,3 % (b.s.). La humedad de los diferentes tratamientos se mantuvo dentro de los rangos esperados durante todo el ensayo, mostrando leves fluctuaciones. No se detectaron diferencias significativas para ninguno de los parámetros composicionales evaluados en el ensayo cuando se realizó la comparación por TyAlm, mientras que se encontraron diferencias significativas cuando se compara por contenido de humedad de almacenamiento ($p < 0,05$). El rango de valores de aceite fue de 8,1 - 8,5% (b.s.), el de proteína 40,2 - 41,4% (b.s.), el de cenizas de 5,8 - 6,0% (b.s.), y el de fibras de 5,4 - 5,7% (b.s.).

Tabla 20. Composición del expeller de soja para los contenidos de humedad de almacenamiento evaluados

CH de Alm. (% b.s.)	CHe (% b.s.)	CAe (% b.s.)	CPe (% b.s.)	Ceniza (% b.s.)	Fibra (% b.s.)
6,4	$6,9 \pm 0,78^a$	$8,5 \pm 0,67^a$	$41,4 \pm 1,10^a$	$6,0 \pm 0,53^a$	$5,7 \pm 0,23^a$
9,9	$8,9 \pm 1,12^b$	$8,4 \pm 0,50^{ab}$	$40,8 \pm 0,98^b$	$5,8 \pm 0,59^b$	$5,5 \pm 0,21^{ab}$
13,6	$11,3 \pm 1,71^c$	$8,1 \pm 0,81^b$	$40,2 \pm 0,97^c$	$5,8 \pm 0,60^b$	$5,4 \pm 0,19^b$

Nota: CH de Alm es el contenido de humedad de almacenamiento, CHe es el contenido de humedad, CAe es el contenido de aceite y CPe es el contenido de proteínas del expeller. Se muestran los valores promedios $\pm$ el desvío estándar. Letras iguales indican que las medias no son significativamente diferentes cuando se comparan por contenido de humedad de almacenamiento ($p < 0,05$)

6.4.2.4. Evolución de la acidez en el expeller de soja almacenado

La acidez del expeller fue evaluada al inicio (t_0) y al final del almacenamiento (t_4). Los datos completos se muestran en el Anexo X. Dado que los datos presentaron una importante heterogeneidad de varianzas, fue necesario previo a su análisis modelar dicha heterogeneidad. Para ello se creó un nuevo conjunto de datos con una variable de clasificación que agruparon los datos en cuatro grupos según esa variabilidad y se ajustó un modelo con varianzas distintas según los grupos definidos anteriormente. En la Figura 25 se muestran los residuales luego del modelado por grupos de la varianza. Posteriormente se realizó una prueba de comparación de medias para evaluar si los cambios en la acidez fueron significativos.

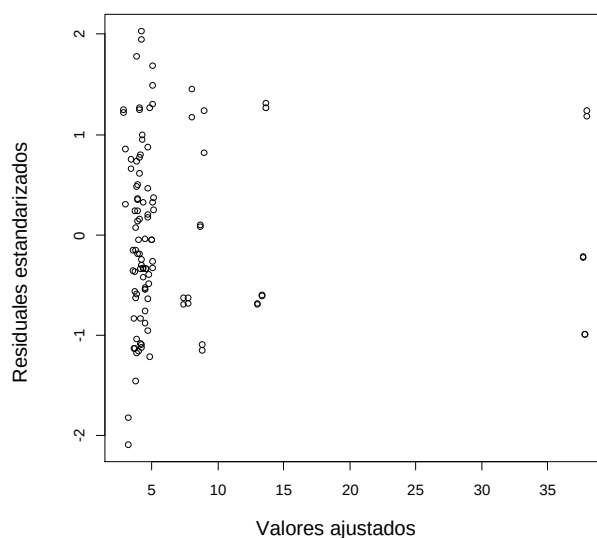


Figura 25. Residuales estandarizados versus valores ajustados luego del modelado por grupos de la varianza de los datos obtenidos para acidez

El análisis de los resultados indicó que existe interacción doble entre el contenido de humedad de las muestras y el factor generado de la combinación de los diferentes tiempos y sistemas de almacenamiento (TyAlm) ($p=0,0288$) y que hay efecto principal de TyAlm. En la Figura 26 se muestran los niveles de acidez promedio determinados en la muestra inicial (t_0) y luego de 189 días de almacenamiento (t_4) del expeller de soja almacenados en una condición hermética y no hermética o convencional, para las tres humedades de almacenamiento. La Figura 26-A muestra el efecto de cada combinación de tiempo y tipo de almacenamiento en cada uno de los niveles de humedad evaluado, donde se observa que la acidez aumentó en el mayor nivel de humedad y este aumento es mayor cuando el almacenamiento se da en condiciones no herméticas. La Figura 26-B muestra el efecto de cada nivel de humedad en cada uno de los tratamientos denominados TyAlm, donde se aprecia que para niveles bajos de humedad (6 y 9% b.h.) t_0 y t_4 :H no presentaron diferencias significativas, mientras que t_4 :C ya a 9% de humedad (b.h.) presentaba diferencias significativas. En ninguno de los casos el agregado de gomas afectó de manera significativa el nivel de acidez.

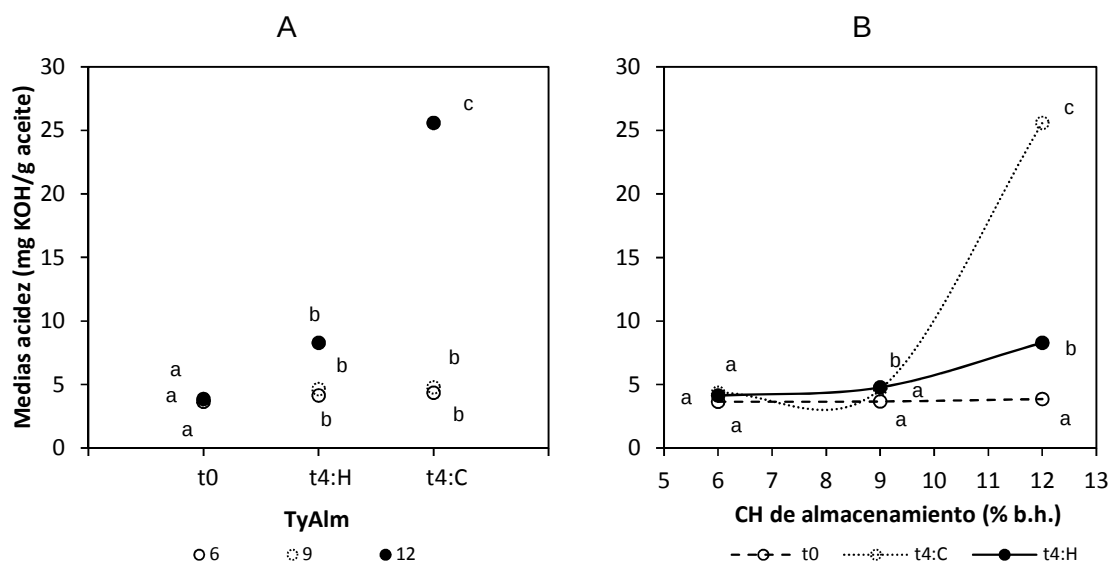


Figura 26. Medias para la acidez del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones. TyAlm surge de la combinación de los tiempos de almacenamiento evaluados (t0 y t4) y el sistema de almacenamiento utilizado (C=convencional o no hermético y H=hermético) y CH es contenido de humedad de almacenamiento (% b.h.) evaluado. Letras minúsculas iguales indican que las medias no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Además de la interacción entre humedad de almacenamiento y TyAlm, la acidez presentó diferencias significativas para el factor aplicado en la sub-sub-parcela, es decir que hubo un efecto principal del TyAlm ($p = 0,0354$) sobre la acidez del expeller de soja almacenado (Figura 27).

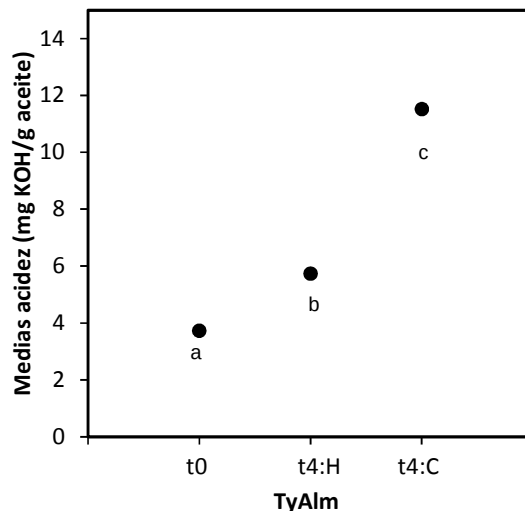


Figura 27. Gráfico de comparación de medias de la acidez del expeller de soja para el efecto principal TyAlm. TyAlm surge de la combinación de tiempo (t0 y t4) y sistema de almacenamiento (hermético y convencional). Letras minúsculas iguales indican que las medias no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

6.4.2.5. Evolución de la actividad microbiológica

La evolución del recuento de UFC/g de MS a lo largo del almacenamiento se puede observar en la Figura 28. Tanto en el caso del almacenamiento hermético (Figura 28-A) como en el convencional o no hermético (Figura 28-B) los recuentos en las muestras de expeller almacenadas a 6 y 9 % de humedad (b.h.) (6,4 y 9,9 % b.s.) no presentaron incrementos en UFC (los valores siempre se mantuvieron por debajo de 10 UFC/g de MS). En el almacenamiento hermético las muestras a 12% de humedad (b.h.) (13,6 % b.s.) en t4 (a los 189 días de almacenamiento) incrementaron a 60 y 157 UFC/g de MS sin el agregado de gomas y con el agregado de gomas, respectivamente. En el caso del almacenamiento convencional (Figura 28-B) los recuentos de UFC manifestaron un incremento en t2 (56 días de almacenamiento) el cual se termina de consolidar en t4 (después de 189 días de almacenamiento) hasta 198 UFC/g de MS. En esta condición (no hermetica) la presencia de oxígeno puede haber favorecido el desarrollo de microorganismos y manifestado su desarrollo para la humedad más elevada, como se mencionó anteriormente, pero a menor tiempo transcurrido desde el inicio del almacenamiento.

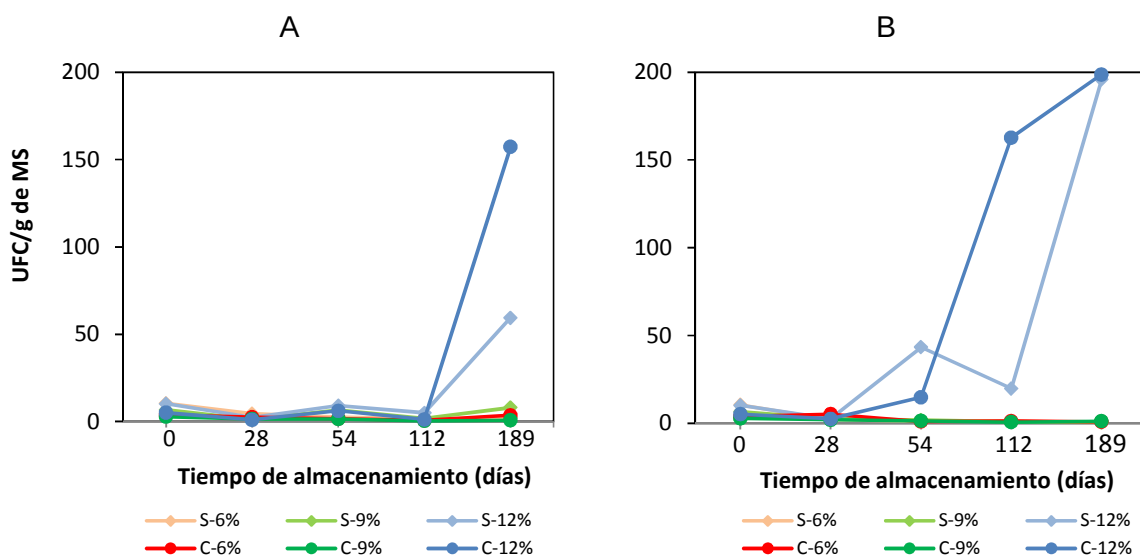


Figura 28. Evolución de recuentos de unidades formadoras de colonias en muestras almacenadas en una condición A) hermética y B) no hermética o convencional para las tres humedades evaluadas y con o sin agregado de gomas (C y S, respectivamente)

Con la finalidad de analizar estadísticamente los resultados los recuentos de UFC fueron transformados a Log10 UFC/g de MS. El análisis estadístico arrojó que hay interacción entre el contenido de humedad de almacenamiento y TyAlm, y que además hay efecto principal de TyAlm en los recuentos de UFC transformados. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas para los factores mencionados a excepción del tratamiento t3:C (almacenamiento en condiciones no herméticas durante 112 días) para un contenido de humedad de almacenamiento de 12% (b.h.) (13,6% b.s.). En la Tabla 21 se pueden ver los valores promedios de los recuentos de Log10 UFC/g de MS para cada una de las condiciones en que se llevó a cabo el almacenamiento del expeller de soja. Los recuentos de UFC transformados completos se muestran en el Anexo XI.

Tabla 21. Recuentos de Log10 UFC/g de MS para cada una de las condiciones de almacenamiento y humedad evaluadas en los diferentes tiempos de almacenamiento de expeller

CH (% b.s.)	TyAlm	Log10 UFC/g de MS
6,4	t0	0,6 ± 0,52 ^{aA}
9,9		0,7 ± 0,32 ^{aA}
13,6		0,7 ± 0,45 ^{abA}
6,4	t1:H	0,5 ± 0,41 ^{aA}
9,9		0,3 ± 0,25 ^{aA}
13,6		0,3 ± 0,33 ^{aA}
6,4	t1:C	0,5 ± 0,41 ^{aA}
9,9		0,4 ± 0,32 ^{aA}
13,6		0,4 ± 0,31 ^{abA}
6,4	t2:H	0,4 ± 0,35 ^{aA}
9,9		0,4 ± 0,46 ^{aA}
13,6		0,6 ± 0,58 ^{abA}
6,4	t2:C	0,3 ± 0,18 ^{aA}
9,9		0,3 ± 0,32 ^{aA}
13,6		0,9 ± 0,83 ^{abA}
6,4	t3:H	0,3 ± 0,14 ^{aA}
9,9		0,2 ± 0,26 ^{aA}
13,6		0,4 ± 0,45 ^{abA}
6,4	t3:C	0,3 ± 0,23 ^{aA}
9,9		0,2 ± 0,19 ^{aA}
13,6		1,0 ± 1,04 ^{bB}
6,4	t4:H	0,5 ± 0,30 ^{aA}
9,9		0,4 ± 0,52 ^{aA}
13,6		1,6 ± 0,82 ^{abA}
6,4	t4:C	0,2 ± 0,17 ^{aA}
9,9		0,2 ± 0,24 ^{aA}
13,6		1,5 ± 1,24 ^{abA}

Nota: CH es el contenido de humedad de almacenamiento expresado en base seca, TyAlm surge de la combinación de los tiempos de almacenamiento evaluados (t0, t1, t2, t3 y t4) y el sistema de almacenamiento utilizado (H=hermético y C=convencional o no hermético), Log10 UFC/g de MS es el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por gramo de materia seca. Se muestran los valores promedios seguidos de ± el desvío estándar. Valores promedios con letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas cuando se comparan dentro de cada nivel de CH y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas cuando se comparan dentro de cada nivel de TyAlm (p<0,05)

6.4.2.6. Frecuencia de aislamiento

La población de hongos filamentosos y levaduras que se encontró en el expeller de soja almacenado durante 189 días bajo diferentes condiciones estuvo constituida por varios géneros que se muestran en la Tabla 22. Los géneros de hongos que se encontraron con mayor frecuencia fueron *Zygomycetes*, *Penicillium* y *Acremonium* (46, 37,3 y 30,2%, respectivamente), seguidos por *Cladosporium* (17,5%) y *Aspergillus* (15,1%). *Fusarium* no fue encontrado y el resto de los géneros se encontraron en frecuencias menores al 10%. Las levaduras totales alcanzaron una frecuencia del 88% en las muestras de expeller almacenadas, una frecuencia muy superior a la de las levaduras totales reportadas en el Capítulo I (11,9%), siendo *Rhodotorula* la que mayor frecuencia de aislamiento mostró ya que fue encontrada en el 79,4% de las muestras de expeller almacenadas.

Tabla 22. Composición de las poblaciones de hongos asociadas con el expeller de soja almacenado durante 189 días bajo diferentes condiciones

Género	Total de muestras analizadas	Muestreos positivos	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Penicillium</i> sp.	126	47	37,3
<i>Alternaria</i> sp.	126	2	1,6
<i>Aspergillus</i> sp.	126	19	15,1
<i>Eurotium</i> sp.	126	11	8,7
<i>Zygomycetes</i> (Clase)	126	58	46,0
<i>Cladosporium</i> sp.	126	22	17,5
<i>Acremonium</i> sp.	126	38	30,2
<i>Fusarium</i> sp.	126	0	0,0
<i>Candida</i> sp.	126	7	5,6
<i>Rhodotorula</i> sp.	126	100	79,4
<i>Botrytis</i>	126	2	1,6

6.4.2.7. Micotoxinas en expeller de soja almacenado

De manera global, considerando la totalidad de las muestras de expeller analizadas, se puede decir que se detectaron DON, FB1 y FB2 en el 75, 66,7 y 66,7% de las muestras de expeller de soja, respectivamente (Tabla 23). En el caso particular de DON ($318,4 \pm 183,11$ µg/kg) y FB2 ($58,5 \pm 22,09$ µg/kg), en términos globales se registraron valores promedios similares a los presentados en la Tabla 11 del Capítulo I para expeller de soja proveniente de diferentes plantas de E-P, mientras que FB1 ($80,0 \pm 30,75$ µg/kg) registró valores

inferiores. A diferencia de las muestras de expeller analizadas en el Capítulo I, las micotoxinas AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ no fueron detectadas en las muestras analizadas. Por otra parte, las micotoxinas nivalenol, ocratoxina A y zearalenona tampoco fueron detectadas.

En el Anexo XII se muestran las micotoxinas detectadas y cuantificadas en las muestras de expeller de soja almacenadas bajo diferentes condiciones. Se puede ver que en todos los casos, se detectaron DON, FB₁ y FB₂ en al menos una de las repeticiones del tratamiento de almacenamiento evaluado. Se encontró que hay interacción entre el factor gomas y el contenido de humedad de almacenamiento ($p=0,0144$) pero no se detectaron diferencias significativas entre los niveles de cada factor ($p<0,05$).

Tabla 23. Micotoxinas en expeller de soja (iniciales y finales) almacenado bajo diferentes condiciones

Producto		DON	FB ₁	FB ₂	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
Expeller de soja (n=36)	Promedio (µg/kg)	318,4	80,0	58,5	0,0	0,0	0,0	0,0
	SD	183,11	30,75	22,09	0,00	0,00	0,00	0,00
	Frecuencia (%)	75,0	66,7	66,7	0,0	0,0	0,0	0,0

Nota: n es el número de muestras analizadas, SD es el desvío estándar, DON es Deoxinivalenol, FB₁ y FB₂ son las fumonisinas B₁ y B₂, y AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ son las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, respectivamente. Se muestran los valores promedios para las muestras iniciales y finales

6.5. DISCUSIÓN

6.5.1. Condiciones seguras de almacenamiento del expeller de soja

6.5.1.1. Efecto del contenido de aceite residual del expeller de soja en las relaciones de humedad de equilibrio

La Figura 29 muestra las curvas de CHE/HRE para expeller de soja con diferentes contenidos de aceite residual (de 7 a 15% b.s.) para una temperatura de 20 °C, predichos con el modelo de Halsey Mejorado. El efecto del contenido de aceite en el CHE fue ligeramente mayor para una HR alta. Por ejemplo, cuando la HR es del 65%, el CHE aumentó sólo 0,7 puntos porcentuales cuando el contenido de aceite decrece de 15 a 7% (b.s.), mientras que el CHE aumentó 1,3 puntos porcentuales cuando la HR es 80%, para los mismos niveles de contenido de aceite. Un comportamiento similar fue encontrado por Maciel *et al.* (2018) al analizar el efecto del contenido de aceite en semillas de girasol.

No se encontró información en la literatura consultada respecto de relaciones de humedad de equilibrio para expeller de soja como para poder realizar una comparación con los resultados de CHE obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, estos resultados muestran el mismo comportamiento que el reportado por Pixton y Warburton (1975) para harinas de soja, quienes obtuvieron un CHE de 13,8% (b.s.) para 25 °C y 70% de HRE (las harinas de soja tienen un contenido de aceite residual muy inferior al expeller (<1%)). A diferencia de ese trabajo, en el presente estudio se evaluaron muestras de expeller cuyo contenido de aceite residual fue muy superior (5 - 15% b.s.), por esta razón los valores de CHE obtenidos fueron más bajos para una misma temperatura (13,1% b.s.). Sin embargo, la forma de la curva de relaciones de humedad CHE/HRE para la harina de soja y para el expeller de soja fue similar.

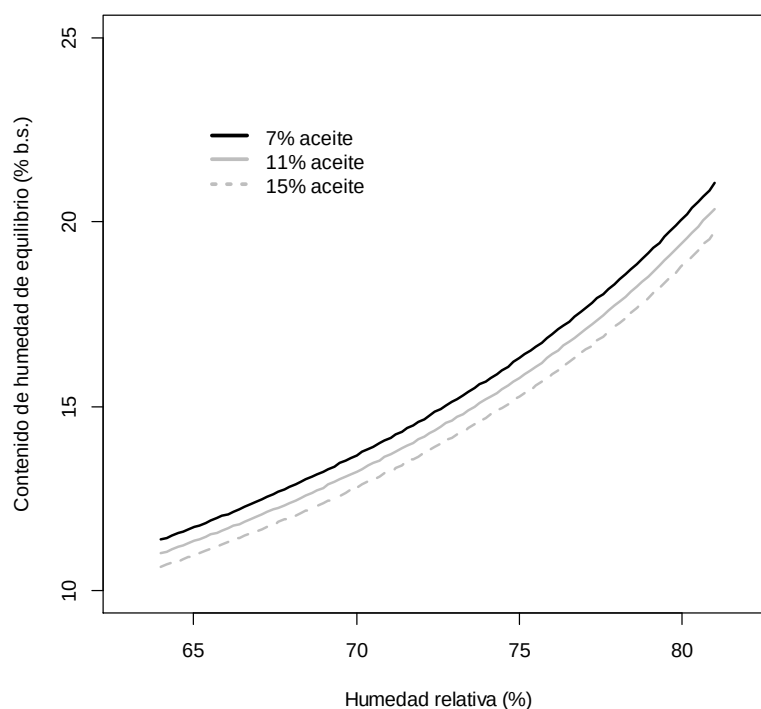


Figura 29. Valores de CHE predichos con el modelo Halsey Mejorado para el expeller de soja con diferentes contenidos de aceite residual (Isoterma a 20 °C)

6.5.1.2. Contenido de aceite residual del expeller y contenido de humedad de almacenamiento seguro

Como se mencionó anteriormente, el contenido de aceite residual típico del expeller de soja es del 7 - 8% (b.s.) (Nelson *et al.*, 1987). Sin embargo, varios autores han informado valores de hasta el 15% en relevamientos realizados en PyMEs que realizan extracción de aceite por E-P (INTI, 2014; Juan *et al.*, 2015; Massigoge *et al.*, 2013). Esta variabilidad podría ser inducida por las características intrínsecas de los diferentes equipos de procesamiento, las condiciones de temperatura y presión de procesamiento en la extrusora (Bargale *et al.*, 1999), la composición de la materia prima (García-Rebollar *et al.*, 2016; Grieshop *et al.*, 2003) o bien por el contenido de humedad con que la materia prima ingresa al procesamiento (Zhu *et al.*, 1996).

El CHAS es aquel que está en equilibrio con una HR del 67%. En esta condición, los hongos presentes durante el almacenamiento no pueden desarrollarse y, por lo tanto, es seguro almacenar granos y subproductos sin perder calidad (Bartosik 2003). Dado que el contenido de aceite afecta las

relaciones de humedad de equilibrio, también afecta en consecuencia el CHAS (Maciel *et al.*, 2015). En la Figura 30 se observa el CHAS predicho con el modelo de Halsey Mejorado propuesto en este trabajo para el expeller de soja con diferentes contenidos de aceite. Para un contenido de aceite de 7% (b.s.) en expeller de soja el CHAS fue de 12,4% (b.s.) para 20 °C, mientras que para 15% de aceite (b.s.) el CHAS disminuyó a 11,6% (b.s.) para la misma temperatura. Por otro lado al analizar el efecto de la temperatura en el CHAS se puede ver que a medida que la temperatura aumenta el CHAS disminuye. Para un contenido de aceite de 7% (b.s.), el CHAS es de 13,7 % (b.s.) a 5 °C, mientras que a 25 °C el CHAS disminuye hasta 12,0% (b.s.). Estos resultados respaldan los presentados en trabajos previos que indican que cuando la temperatura de almacenamiento aumenta el CHAS disminuye y que cuando el contenido de aceite aumenta el CHAS también disminuye (Maciel *et al.*, 2018, 2015).

El efecto del contenido de aceite observado tanto para la HRE como para el CHAS para el expeller de soja analizado en el presente estudio fue menor que el observado para las semillas de girasol (Maciel *et al.*, 2015). Esto podría deberse a que los rangos de contenidos de aceite evaluados en ambos trabajos fueron muy diferentes. Para el estudio de expeller de soja el rango máximo fue de 10 puntos porcentuales mientras que Maciel *et al.* (2015) analizaron híbridos de girasol con hasta casi 20 puntos porcentuales de diferencia (entre 39 y 55% b.s.), valores muy superiores al nivel de aceite reportado en el presente estudio. Al comparar el efecto del contenido de aceite en ambos productos vemos que para una condición de 20°C y una HRE de 67% por cada 5 puntos porcentuales de aumento en el contenido de aceite en girasol el CHAS disminuye entre 1,1 y 1,6 puntos porcentuales (Maciel *et al.*, 2018), mientras que por cada 5 puntos porcentuales de aumento en el contenido de aceite residual en expeller de soja el CHAS disminuye sólo 0,6 puntos porcentuales.

Desde el punto de vista práctico estos resultados indican que el almacenamiento de expeller con alto contenido de aceite debería realizarse a un menor contenido de humedad que el almacenamiento de expeller con bajo contenido de aceite. Sin embargo es importante destacar que, en base a lo

observado en el Capítulo II, el procesamiento de poroto de soja con mayor contenido de humedad resulta en una baja eficiencia de extracción, produciendo expellers con alta humedad y alto contenido de aceite, situación riesgosa para el almacenamiento.

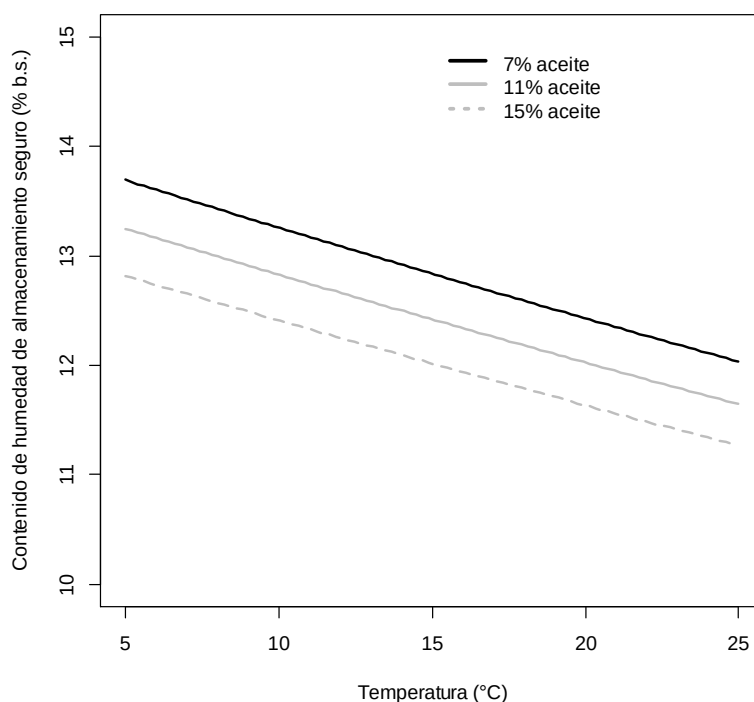


Figura 30. Contenido de humedad de almacenamiento seguro (% b.s.) del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual predicho con el modelo Halsey Mejorado para tres contenidos de aceite (entre 7 y 15%) y temperaturas entre 5 a 25 °C (HRE de 67%)

6.5.1.3. Respiración y actividad microbiológica

La tasa de producción de CO_2 del expeller de soja con diferente contenido de aceite fue de 0,3 a 11,3 mg de CO_2 / (kg MS d) almacenados con un CHE de 11,7 a 17,9% b.s. y a 20°C (Tabla 19). Estos valores de respiración se encuentran dentro del rango de valores informados en la literatura para semillas de soja cuando las condiciones de almacenamiento fueron similares. Por ejemplo, Ochandio *et al.* (2017) estudiaron la respiración de diferentes variedades de semillas de soja y reportaron tasas de respiración de 0,13 a 20,27 mg CO_2 / (kg MS d) para 15 - 35 °C con una humedad de 13 - 17% b.s., y Sood (2015) informó una tasa de respiración de 15,7 mg CO_2 / (kg MS d) a 35

°C y 14% de humedad (b.s.) Estas tasas de respiración para semillas y expeller de soja fueron más bajas que las reportadas para otros granos almacenados bajo condiciones similares de temperatura y HRE. Por ejemplo, Karunakaran *et al.* (2001) y Lacey *et al.* (1994) informaron tasas de respiración de hasta 463 mg de CO₂ / (kg MS d) para trigo, Pronyk *et al.* (2004) tasas de 290 mg CO₂ / (kg MS d) para canola, y Bern *et al.* (2002) tasas de 155 mg de CO₂ / (kg MS d) para maíz.

Existe una relación entre tasa de respiración y actividad microbiológica en los productos almacenados (Bern *et al.*, 2002; Hamer *et al.*, 1991; Marcos Valle, 2015; Ochandio *et al.*, 2017; Weinberg *et al.*, 2008). En tal sentido, los bajos valores de tasa de respiración encontrados responden a que el conteo de UFC en el presente estudio (en el orden de 10¹, Anexo XIII) resultaron sustancialmente inferiores a lo observado para otros productos (en el orden de 10⁴ a 10⁷ UFC/g de MS (Marcos Valle, 2015)), con excepción de soja (en el orden de 10¹ (Ochandio, 2014)).

6.5.1.4. Tiempo de almacenamiento seguro

El tiempo de almacenamiento seguro (TAS) indica el tiempo máximo que un producto podría almacenarse a una determinada temperatura y CH sin presentar una pérdida de calidad económicamente significativa. El TAS generalmente está asociado a un nivel de pérdida de materia seca (PMS) acumulado, expresado en porcentaje. Saul y Steele (1966) observaron que al traspasar el límite de 0,5% de PMS, las muestras de maíz que estaban estudiando se calificaron por debajo del grado 2 de acuerdo a la graduación del USDA, debido principalmente al daño por actividad microbiana. En algunos casos se sugirieron límites de PMS más estrictos (0,1%) para otros productos como trigo (White *et al.*, 1982), para evitar pérdidas de poder germinativo. Como no hay una recomendación específica respecto del límite PMS para expeller de soja, se utilizó el límite más estricto de 0,1% para la discusión de los resultados.

La tasa de respiración se transformó en PMS acumulada y el TAS (días para alcanzar 0,1, 0,5 y 1%) se muestran en la Tabla 24. Si el objetivo fuera almacenar el expeller de soja durante 5 meses (150 días) suponiendo una PMS

de 0,1%, la HRE debería ser del 75% o inferior para cualquier contenido de aceite. Sin embargo, si la HRE aumenta al 80%, el TAS disminuye a sólo 2 semanas (14 días) para contenidos de aceite de 9% o superior, y a 2 meses (60 días) para un contenido de aceite de 6,2%. El TAS del expeller de soja determinado en el presente estudio (de 167 a 333 días para un rango de CHE de 14,3 - 15,4% a 20 °C) se ajusta a lo reportado por Ochandio *et al.* (2017) para semillas de soja almacenadas a 15 y 25 °C con un CHE de 14,9% (769 y 162 días, respectivamente). Esto implicaría que la actividad microbiológica y otros procesos asociados que pueden afectar la tasa de respiración y, por lo tanto, fomentar la pérdida de calidad, son similares para semillas de soja y para el subproducto que se obtiene por el E-P de las mismas (expeller de soja).

Tabla 24. Tiempo de almacenamiento necesario para alcanzar 0,1, 0,5 y 1% de PMS para expeller con diferentes contenidos de aceite y condiciones CHE / HRE a 20 °C

CAe (%)	HRE (%)	CHE (% b.s.)	Días hasta alcanzar los niveles de PMS (%)		
			0,1	0,5	1
6,2	70	13,6	333	1667	3333
	75	15,2	167	833	1667
	80	17,9	59	294	588
9,6	70	13,0	333	1667	3333
	75	15,4	333	1667	3333
	80	17,6	9	44	88
15,3	70	11,7	333	1667	3333
	75	14,3	250	1250	2500
	80	16,5	13	66	132

Nota: CAe es el contenido de aceite, HRE es la humedad relativa de equilibrio, CHE es el contenido de humedad de equilibrio y PMS es la pérdida de materia seca

Basándose en el procedimiento generalmente utilizado para establecer las condiciones de almacenamiento seguro de un grano o subproducto, considerando una HRE del 67%, el CHAS del expeller de soja debería oscilar entre 10,7% y 13% (b.s.) para un rango de temperaturas entre 10 y 25 °C y contenidos de aceite residual dentro del rango de 7 a 15% (b.s.) (Figura 30). Sin embargo, según los resultados obtenidos en los ensayos de respiración (Tabla 19), se podría especular que el expeller de soja podría almacenarse de manera segura a 20 °C con una HRE del 75%, lo que corresponde a un CHE de 15 y 16,2% (b.s.) para contenidos de aceite residual de 15 y 7% (b.s.), respectivamente.

Juan *et al.* (2015) informaron que en Argentina, la soja se procesa típicamente a una humedad entre 10 y 12% (b.h.), produciendo expeller con un contenido de humedad de alrededor de 6 - 8% (b.h.). Sin embargo, después del proceso de E-P, las gomas presentes en el aceite extraído generalmente se vuelven a agregar al expeller, previamente diluidas en agua, generando una rehidratación del subproducto a valores que pueden alcanzar un 9 - 11% (b.h.) (9,9 - 12,4% b.s.), siendo este el contenido de humedad con el que generalmente se comercializa el expeller de soja en Argentina. Esta práctica habitual de hidratación y agregado de gomas tiene dos objetivos principales: por un lado, darle un destino a las gomas (ya que en este país no existe un mercado para eso) y por otro, aumentar el peso del expeller de soja con fines netamente comerciales (el producto se vende por peso). Se podría argumentar que esta práctica no supera el CHAS del producto (el CHAS del expeller de soja con 7% de aceite residual a 20 °C es 13,5% (b.s.)) (Figura 30). Sin embargo, si la soja se procesara a un mayor contenido de humedad, produciría expeller con mayor humedad y también con un mayor contenido de aceite residual, dada la menor eficiencia de extracción como se explicó en Capítulo I. En este caso, la adición de gomas y agua al expeller de soja daría lugar a condiciones de almacenamiento inseguras, razón por la cual no se recomienda realizar esta práctica.

6.5.2. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad del expeller de soja

En las siguientes secciones se discuten los resultados del ensayo de almacenamiento de expeller bajo diferentes condiciones de atmósferas, humedad y agregado de gomas.

6.5.2.1. Efectos del almacenamiento y la humedad sobre la calidad

Los sistemas de almacenamiento hermético se basan en restringir el normal intercambio de gases entre el interior y exterior del envase a los efectos de lograr una modificación de la atmósfera interna a través de la actividad respiratoria de los organismos presentes en el producto almacenado. Así, la respiración de los hongos, bacterias e insectos (si estuvieran presentes)

consumen el O_2 y generan CO_2 , alterando las condiciones atmosféricas iniciales. Si esta alteración resulta significativa, inhibe la actividad de los organismos aerobios mejorando las condiciones de almacenamiento (Navarro, 2006). Los envases flexibles, tal como el utilizado en el presente estudio (film plástico de 230 micrones de espesor) tienen una determinada tasa de permeabilidad a los gases. Por otra parte, la tasa de respiración del producto depende de sus condiciones de almacenamiento, fundamentalmente temperatura, humedad y disponibilidad de O_2 (Ochandio *et al.*, 2017). La dinámica de gases en la atmosfera interna del envase hermético está dada por la relación entre las tasas de respiración (consumo de O_2 y liberación de CO_2) y la tasa de permeabilidad de la cubierta plástica (fuga de CO_2 al ambiente externo e ingreso de O_2 al ambiente interno) (Bartosik, 2012). Entonces, cuanto mayor es el contenido de humedad del producto almacenado, mayor será su tasa de respiración. La tasa de respiración del expeller a 11% de humedad (b.s.) fue de 0,3 mg de CO_2 / (kg MS d), mientras que a 16 - 17% de humedad (b.s.) la tasa de respiración se incrementó entre 1,7 y 11,3 mg de CO_2 / (kg MS d), esto es entre 5,6 y 37 veces más (Tabla 19). Una mayor tasa de respiración se manifiesta en una mayor modificación de la atmósfera interna y viceversa. Esto se puede apreciar en la Figura 22, donde la condición de almacenamiento a mayor humedad (12% b.h.) resultó en un mayor nivel de modificación de la atmósfera intergranaria por su mayor tasa de respiración, mientras que a menores humedades la baja tasa de respiración fue compensada por la tasa de permeabilidad del film plástico, manteniendo concentraciones de gases similares al sistema convencional o no-hermético (21% de O_2 y 400 ppm de CO_2) durante los 189 días del ensayo.

La Figura 30 muestra que el CHAS para 20°C y 15% de aceite (b.s.) es de 11,6% (b.s.). En consecuencia, las condiciones experimentales logradas determinaron tres situaciones diferentes. A niveles de humedad bajos (6% b.h.) e intermedios (9% b.h.), el tenor de humedad “*per se*” fue restrictivo para el desarrollo de microorganismos ya que se encontraban por debajo del CHAS. Además, dado que la respiración en estos niveles de humedad fue prácticamente despreciable, no hubo diferencias entre la condición de almacenamiento hermético y almacenamiento convencional. El tratamiento de

mayor contenido de humedad (entre 11 y 12% b.h.) estuvo en el límite de la condición de almacenamiento segura mostrando evidencias de actividad microbiológica (modificación de la atmósfera interna en el almacenamiento hermético), por lo que en este caso sería esperable encontrar ciertas diferencias entre el almacenamiento hermético (cierta restricción al consumo de O₂, donde se llegó a valores entre 9 y 13%, Figura 22) y el almacenamiento convencional.

En las siguientes secciones se puede apreciar que a niveles de humedad intermedios (9% b.h.) y bajos (6% b.h.) no se observó evolución negativa de parámetros de calidad en los 189 días de almacenamiento en ninguno de los dos sistemas de almacenamiento evaluados. Por su parte, a la mayor humedad evaluada (11 - 12% b.h.) se logró detectar cambios negativos en indicadores de calidad como luminosidad, acidez y conteo de UFC. A su vez, también se pudo verificar que en este caso el almacenamiento hermético tuvo un efecto protector sobre los mencionados indicadores de calidad.

6.5.2.2. Evolución de la actividad microbiológica

El promedio de UFC para el expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones fue de 18,3 UFC/g de MS, un valor muy inferior al límite prescrito de 10⁴ UFC/g para harinas de soja (Barros *et al.*, 2010). Inclusive, aun considerando el máximo valor encontrado en el presente estudio (595,1 UFC/g de MS para una condición de almacenamiento no hermético y una humedad de almacenamiento de 11% b.s.), la carga fúngica estuvo dos órdenes de magnitud por debajo del mencionado límite. Estos valores resultaron en general muy inferiores a los reportados para otros granos y/o subproductos.

En la Figura 28 se puede ver la evolución de los recuentos obtenidos en promedio para las tres repeticiones evaluadas. De manera consistente los recuentos a humedades de 6 y 9% (b.h.) fueron muy bajos, mientras que para ambos sistemas de almacenamiento (hermético y convencional) se haya realizado o no el agregado de gomas, el expeller con 12% de humedad (b.h.) presentó los mayores recuentos, alcanzando valores de 200 UFC/g de MS al final del almacenamiento. Sin embargo, aun estos valores son bajos

comparados con los reportados para otros productos almacenados (en el orden de 10^4 a 10^7 UFC/g de MS (Marcos Valle, 2015)).

6.5.2.3. Recuento de especies fúngicas y evolución de micotoxinas en expeller

Los géneros encontrados, en líneas generales, fueron similares a los reportados en el Capítulo I, con la particularidad que no se detectó *Fusarium*, lo cual resulta de alguna manera interesante debido a que se detectó DON, micotoxina producida por hongo de dicho género. De manera contraria, se identificaron dos especies del género *Aspergillus* (*A. flavus* y *A. niger*), consideradas indeseables en este tipo de producto por ser potenciales productores de micotoxinas (Tabla 23), sin embargo no se detectaron las toxinas relacionadas a dichos hongos (aflatoxinas).

En general, las micotoxinas DON, FB₁ y FB₂ se encontraron con una concentración promedio de 318, 80 y 59 µg/kg, respectivamente, y con una frecuencia entre 66 y 75%. Las concentraciones y la frecuencia de detección fueron similares a las encontradas para el promedio de muestras analizadas en el Capítulo I correspondientes a muestras de expeller provenientes de diferentes plantas de E-P. Contrastando con lo reportado en el Capítulo I, en este ensayo no se detectó AG₁ y AG₂ en ninguna muestra.

No se detectó incremento de concentración de micotoxinas durante el almacenamiento, por lo que se puede especular que el nivel de actividad de agua (aw) de los tratamientos fue suficientemente restrictivo para como para evitar el desarrollo de hongos micotoxigénicos. Esta especulación resulta razonable dado que el tratamiento de almacenamiento más húmedo resultó con un CHE entre 11 y 12% (b.s.), correspondiente a una HRE aproximada a 65 - 67% (aw de 0,65 - 0,67) (Figura 28). La mayoría de los hongos micotoxigénicos requieren niveles de aw por encima de 0,73 para estar activos y desarrollar toxinas (Magan *et al.*, 2011).

6.5.2.4. Evolución del color del expeller de soja almacenado

El parámetro L^* resultó ser el parámetro del color que presentó la mayor variación. La caída en la luminosidad durante 189 días de almacenamiento podría estar asociada al desarrollo de hongos y reacciones bioquímicas causantes del pardeamiento. El almacenamiento del producto a alta humedad genera condiciones adecuadas para el desarrollo de hongos y otros microorganismos asociados a la descomposición del expeller y, por lo tanto, a la producción de compuestos pardos (producto de la acción de enzimas). Por otra parte, el micelio de los hongos generalmente presenta coloraciones verdosas, que podrían haber contribuido en la pérdida de luminosidad del expeller durante el almacenamiento. Estas coloraciones verdosas además se vieron reflejadas por una disminución en el parámetro a^* del color en las muestras obtenidas al final del almacenamiento. En promedio el valor de a^* para t_0 fue 1,5 mientras que para t_4 se redujo en promedio a 0,8 y 0,7 para el almacenamiento hermético y convencional, respectivamente (ANEXO VIII).

En general, las muestras almacenadas a mayor humedad tendieron a mostrar menores valores de L^* al final del período de almacenamiento, independientemente del sistema de almacenamiento y del agregado de gomas, aunque estas diferencias no fueron significativas. Por otra parte, el almacenamiento hermético resultó con menor variación en la luminosidad a partir de t_3 (112 días).

6.5.2.5. Evolución de la acidez

Al almacenar el expeller de soja con un contenido de humedad cercano a 11 - 12% (b.s.) se aceleraron los procesos de deterioro provocando una mayor cantidad de ácidos grasos libres en el aceite residual respecto de las menores humedades evaluadas en el presente ensayo (6 y 9% b.h.). El incremento de la acidez con la humedad de almacenamiento fue reportada también por Cardoso *et al.* (2014) para girasol, Bartosik *et al.* (2008) para soja, Pronyk *et al.* (2006) para canola y Alvarez *et al.* (2019) para burlanda de maíz. Los niveles de acidez del expeller de soja almacenado a 6 y 9% de humedad (b.h.) se encontraron alrededor o por debajo del valor de referencia (4,0 mg KOH/g de aceite) establecido por la FAO (1999) para productos obtenidos por prensado

en frío y aceite virgen, mientras que a 12% de humedad (b.h.) la acidez del expeller superó ampliamente dicho límite luego de 189 días de almacenamiento.

El almacenamiento en condiciones no herméticas presentó incrementos superiores en los niveles de acidez respecto del almacenamiento hermético (25,6 y 8,3 mg KOH/g de aceite, respectivamente), aunque esto se dio particularmente en el mayor contenido de humedad (12% b.h.). A menor contenido de humedad (6 y 9% b.h.), los valores de acidez fueron bajos (menores a 5 mg KOH/g aceite) y se mantuvieron constantes en el tiempo, tanto en el sistema de almacenamiento hermético como en el convencional. De manera similar a lo descrito, Navarro *et al.* (2012) reportaron que el almacenamiento de maní bajo sistema hermético y convencional mostró diferencias en cuanto al desarrollo de acidez solamente a altas humedades. Esto podría deberse a que la combinación de O₂, humedad y actividad microbiológica en el almacenamiento convencional aceleró los procesos de deterioro. Por su parte, a bajas humedades, el efecto inhibitorio que esta condición produce sobre el desarrollo microbiológico ayuda a reducir el deterioro oxidativo del aceite, aun en presencia de O₂. Además la acidez no varió en el tiempo analizado en ninguno de los dos sistemas de almacenamiento con bajo nivel de humedad (Figura 22).

El expeller de soja producido en Argentina es generalmente utilizado para la formulación de dietas balanceadas para la alimentación animal, razón por la cual conocer los cambios producidos en su composición y calidad luego del almacenamiento resulta de gran importancia. El expeller con altos niveles de acidez genera cambios en las características sensoriales del producto (alteraciones en el color, consistencia, olor y sabor que no fueron evaluadas en este estudio pero si observadas) las cuales generan rechazo por parte de los animales al momento de consumirlos (Gallardo, 2011).

6.5.2.6. Composición del expeller de soja almacenado

En general la composición del expeller almacenado durante 189 días no presentó diferencias respecto de t₀. Esto quiere decir que, aun en las

condiciones de mayor humedad evaluada (11 - 12% b.s.), la actividad microbiológica no fue lo suficientemente importante como para generar un cambio en la composición del producto. Esto está en concordancia con los valores de TAS reportados en la Tabla 24, los cuales indican que para humedades de 13,6% (b.s.) se requieren más de 300 días para observar un cambio de 0,1% en la materia seca, lo cual no puede ser detectado en un estudio composicional. Resultados similares fueron reportados para el almacenamiento de otros subproductos, tales como la burlanda húmeda de maíz (Alvarez *et al.*, 2019).

6.5.2.7. Efecto del agregado de gomas

Bajo las condiciones experimentales evaluadas, no se encontró ningún efecto diferencial producto del agregado de gomas en el expeller previo a su almacenamiento. Esto pudo deberse a que, en el presente estudio, el agregado de gomas (diluidas en agua) se realizó de manera previa al acondicionamiento de las muestras por humedad. Por lo tanto, de manera práctica tanto las muestras con el agregado de gomas como las muestras sin el agregado de gomas resultaron con el mismo nivel de a_w (para un determinado nivel de humedad). En consecuencia es posible especular que la práctica de agregar gomas al expeller en sí no afecta su almacenabilidad, sino que el efecto está dado por el incremento de humedad en la muestra (las gomas se agregan diluidas con agua).

6.5.3. Implicancias prácticas

En el Capítulo I se determinó que las condiciones típicas de procesamiento de soja producen expellers con 7 - 8% de humedad (b.s.) y 8 - 9% de aceite (b.s.) (Tabla 5). En función de lo determinado en el Capítulo III esta condición de almacenamiento de expeller resulta segura, ya que la actividad microbiológica se mantiene restringida (no se detectó aumentos de UFC y la respiración es prácticamente despreciable), y no se ven afectados los parámetros de calidad (desarrollo de micotoxinas y acidez).

En ciertas plantas de E-P el procesamiento de soja muy húmeda puede dar como resultado expellers con mayor humedad y mayor contenido de aceite. En

ese caso, si la humedad del expeller llegara a los 11 - 12% (b.s.) es esperable el desarrollo de actividad microbiológica con signos visibles de deterioro de la calidad durante el almacenamiento. Estos cambios se manifestarían como oscurecimiento del color e incremento de la acidez del producto, con posible pérdida de palatabilidad. Sin embargo, en función de los estudios de respiración, las PMS serían relativamente bajas por lo que no se esperarían cambios significativos en la composición del producto. En este caso, el almacenamiento hermético, como por ejemplo el que se lograría en un silo bolsa, podría mejorar las condiciones de almacenamiento del producto al restringir la disponibilidad de O₂.

Si la humedad del producto fuese mayor a 16% (b.s.), la actividad microbiológica se dispararía (manifestándose en altas tasas de respiración) y las pérdidas de calidad seguramente serían mucho más rápidas y severas (incluyendo, posiblemente, el desarrollo de micotoxinas durante el almacenamiento).

Cabe destacar que si bien se pudo establecer que el agregado de gomas "*per se*" no dificulta la conservación del expeller, puede darse la situación que debido al agregado de las gomas, diluidas en agua, se incremente el tenor de humedad del expeller al punto tal de desarrollar actividad microbiológica y afectar la calidad del producto durante su almacenamiento, razón por la cual se recomienda controlar la humedad del expeller si se realiza esta práctica, ya que por encima de una HRE de 80% el expeller no podría almacenarse.

6.6. CONCLUSIONES PARCIALES

El modelo de Halsey Mejorado propuesto en el presente trabajo fue el que mejor ajuste mostró para las relaciones de contenido de humedad de equilibrio/humedad relativa de equilibrio del expeller de soja.

Para una condición segura de almacenamiento (humedad relativa de equilibrio de 67%) el expeller de soja debe almacenarse con un contenido de humedad de 12,4% (b.s.) para una temperatura de 20 °C y un contenido de aceite residual de 7% (b.s.). El almacenamiento en esta condición segura se vio afectado tanto por la temperatura como por el contenido de aceite. El contenido de humedad de almacenamiento seguro deberá disminuirse en 0,4 puntos porcentuales por cada 5 °C de aumento en la temperatura y 3 puntos porcentuales de aumento de contenido de aceite.

El ensayo de respiración, por otro lado, demostró que sería seguro almacenar el expeller de soja con hasta un contenido de humedad de 16% (b.s.) (equivalente a una humedad relativa de equilibrio de 75%). El contenido de aceite residual del expeller sólo generó un efecto en la respiración cuando la humedad relativa de equilibrio fue de 80%.

El almacenamiento de expeller a humedades de hasta 9% (b.s.) no evidenció actividad microbiológica y tampoco se encontraron evidencias de pérdidas de calidad durante 189 días de almacenamiento.

El almacenamiento de expeller a 11 - 12% de humedad (b.s.) mostró signos incipientes de actividad microbiológica con incremento de acidez y variaciones de color. En este caso el almacenamiento hermético demostró ser eficaz para ralentizar los procesos de deterioro.

En función de esto, la hipótesis 2 “El almacenamiento hermético prolonga el tiempo de almacenamiento seguro del expeller de soja porque reduce la disponibilidad de oxígeno limitando el desarrollo de hongos y retardando los procesos oxidativos de deterioro del aceite residual presente en el producto extrusado” es parcialmente rechazada debido a que cuando el expeller presenta una humedad de alrededor de 12% (b.s.), almacenar en condiciones herméticas representa un beneficio para su conservación, mientras que a humedades inferiores no se vieron diferencias.

La reincorporación de gomas al expeller de soja, extraídas previamente del aceite, es una práctica habitual en plantas de extrusado-prensado de soja en Argentina que debe ser realizada con precaución. Estas gomas se adicionan junto con una importante cantidad de agua que generalmente aumenta el contenido de humedad del producto en 3 o 4 puntos porcentuales. En estas condiciones, si la temperatura es mayor o igual a 20 °C, la humedad relativa de equilibrio estaría alrededor del 80%, es decir, condición no segura para almacenar el producto.

**7. Capítulo IV: Acondicionamiento de
la materia prima y su efecto en
aspectos de calidad funcional**

7.1. INTRODUCCIÓN

Los cambios en las preferencias de los consumidores tienden al reemplazo de productos proteicos de origen animal (carne, leche, huevo) por aquellos de origen vegetal. Esto predispone la implementación de tecnología para la elaboración de alimentos que incorporan proteínas de origen vegetal de menor costo, de alta calidad nutricional y funcional y más saludables, ya que la sustitución de la proteína animal reduce los niveles de colesterol y triglicéridos de quienes lo consumen (El-Shemy, 2011; Heywood *et al.*, 2002).

Las proteínas destinadas a la industria de alimentos deben contar con ciertas propiedades intrínsecas específicas, como son una buena calidad nutricional y presentar sabor, color y textura aceptables para los consumidores. Además, deben presentar propiedades funcionales adicionales con la finalidad de mejorar el alimento al que se agregan (Badui Dergal, 2006; Bhattacharya *et al.*, 1986; Endres, 2001; Kinsella y Melachouris, 1976).

Aunque la mayor parte de la proteína de soja producida en Argentina se utiliza en la alimentación animal (Bragachini *et al.*, 2017; Gallardo, 2011), un volumen cada vez mayor se utiliza como ingrediente alimentario. Las proteínas de soja juegan un rol importante en muchos productos alimenticios debido a su alto valor nutricional y a su aplicación como ingredientes funcionales (Kang *et al.*, 1991). La gama de propiedades funcionales que presentan las harinas, concentrados y aislados de soja es muy amplia y tienen aplicación específica en los diferentes tipos de alimentos (Kang *et al.*, 1991; Kinsella, 1979; Kinsella y Melachouris, 1976). Los procesos de elaboración de alimentos provocan cambios físicos y químicos que afectan las propiedades funcionales de las proteínas presentes en ellos. Las proteínas de soja son frecuentemente utilizadas en la formulación de diversos alimentos y por lo tanto es importante conocer el alcance que pueden tener estos cambios físicos y químicos.

Muchas de las propiedades funcionales más importantes de los alimentos implican la interacción entre proteínas y lípidos. El expeller de soja presenta un contenido de aceite mayor que el de las harinas, por lo que algunos investigadores han planteado la hipótesis de que el expeller de soja puede tener características funcionales adicionales sobre la harina de soja (Heywood *et al.*, 2002).

Las propiedades funcionales más importantes de las proteínas de soja incluyen la solubilidad/dispersabilidad de la proteína en agua, la capacidad de retención de agua y las propiedades emulsificantes y espumantes, entre otras. Sin embargo, se ha publicado una cantidad limitada de trabajos de investigación donde se evalúan las características funcionales de harinas, aislados o concentrados proteicos de soja obtenidos a partir del proceso de E-P (Heywood *et al.*, 2002).

Durante la producción de alimentos, es muy común la aplicación de tratamientos térmicos, siendo estos los principales responsables de la desnaturalización de las proteínas. Estos tratamientos térmicos aplicados a subproductos de soja no sólo logran desnaturalizar/inactivar los factores antinutricionales (tales como el factor antitriptico de Kunitz (KTI), el factor antitriptico de Bowman-Birk (BBTI), inhibidores de ureasa, lectina y proteasas, entre otros) (Liener, 1994; Olguin *et al.*, 2003; Zhang y Parsons, 1993), sino que además facilitan la posterior digestión de las proteínas (Zhang y Parsons, 1993). Por otra parte, es conocido que dichos tratamientos térmicos pueden afectar la funcionalidad de las proteínas, por lo que es necesario realizarlos de manera controlada durante la producción y manufactura de alimentos (Badui Dergal, 2006; Fennema, 2000).

Las fracciones 7S y 11S son las fracciones más importantes de globulinas presentes en las semillas de soja. La fracción 7S está compuesta por tres glicoproteínas una de ellas llamada β -conglucina. La fracción 11S representa el 40% de las proteínas de la semilla de soja y entre ellas se encuentra como proteína mayoritaria la glicina. Estas son las proteínas llamadas de almacenamiento y son las responsables de las propiedades funcionales de aplicación en alimentos. Están formadas por complejas estructuras donde se involucran varias subunidades y, por lo tanto, son muy sensibles a agentes de desnaturalización incluyendo la aplicación de altas temperaturas, pHs extremos, disolventes, sales, entre otros. De todos los agentes de desnaturalización, la temperatura es la de mayor relevancia. Tratamientos térmicos excesivos provocan en primera instancia pérdida de solubilidad y/o dispersabilidad de las proteínas, afectando posteriormente otras propiedades de aplicación (Badui Dergal, 2006; Fennema, 2000).

Las diferentes etapas que ocurren durante el acondicionamiento y el procesamiento de los granos de soja hasta la obtención de expeller y aceite, involucran principalmente operaciones de secado, extrusión y prensado las cuales pueden producir diferentes cambios sobre las proteínas presentes en el expeller de soja. Además de la desnaturalización mencionada anteriormente, también pueden producir otras modificaciones estructurales como son la agregación proteica (que provoca pérdida de solubilidad y/o dispersabilidad y afecta la funcionalidad de las proteínas, además cuando la agregación ocurre por vía covalente puede también afectar la calidad nutricional) y alteración de aminoácidos (que afecta negativamente su aprovechamiento nutricional) (Sobral *et al.*, 2012).

El grado de desnaturalización de las proteínas puede evaluarse mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés). Anderson (1992) demostró que con DSC es posible detectar si una harina de soja fue desactivada (inhibidor de la tripsina), producto de la desaparición del pico característico a los 61 °C, y que las proteínas de reserva (7S y 11S) permanecieron sin desnaturalizarse (pero con una pérdida en la solubilidad de las mismas) incluso después de ser sometido a un tratamiento térmico intenso.

Los procesos de transformación producen cambios en la estructura y funcionalidad de las proteínas. Una forma frecuentemente utilizada para evaluar estos cambios y su incidencia en las propiedades funcionales es mediante la determinación del índice de solubilidad de nitrógeno (NSI) o el índice de dispersabilidad de proteínas (PDI, por sus siglas en inglés) (Kinsella, 1979). Para obtener proteínas con funcionalidad óptima, es decir que mantengan su capacidad de gelificación, actividad emulsionante, o de formación de espumas, por ejemplo, es necesario que la proteína sea altamente soluble. Por el contrario, si las proteínas presentan una baja solubilidad tienen propiedades funcionales limitadas y su uso se verá limitado (Kinsella, 1979).

Otra forma de evaluación de la dispersabilidad de las proteínas es mediante la solubilidad proteica en KOH (Araba y Dale, 1990a; 1990b). Por su parte, la alteración de aminoácidos se produce cuando los tratamientos térmicos son realizados a muy altas temperaturas o durante tiempos prolongados, con lo

cual el daño ocasionado va más allá de una desnaturalización o agregado de proteínas. En tal sentido, una de las modificaciones más frecuentes es la pérdida de disponibilidad de lisina. La pérdida de lisina se da por la formación de agregados, vía reacción de Maillard, en los cuales la lisina pierde su disponibilidad digestiva (Mustakas *et al.*, 1981). La pérdida de solubilidad en KOH de las proteínas da información de este cambio estructural (Parsons *et al.*, 1991; Sobral *et al.*, 2012). Además, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) ha tomado mayor importancia para detectar cambios estructurales en las proteínas de reserva (7S y 11S) presentes en las harinas de soja (Haris y Severcan, 1999; Singh, 2000; Wang *et al.*, 2011).

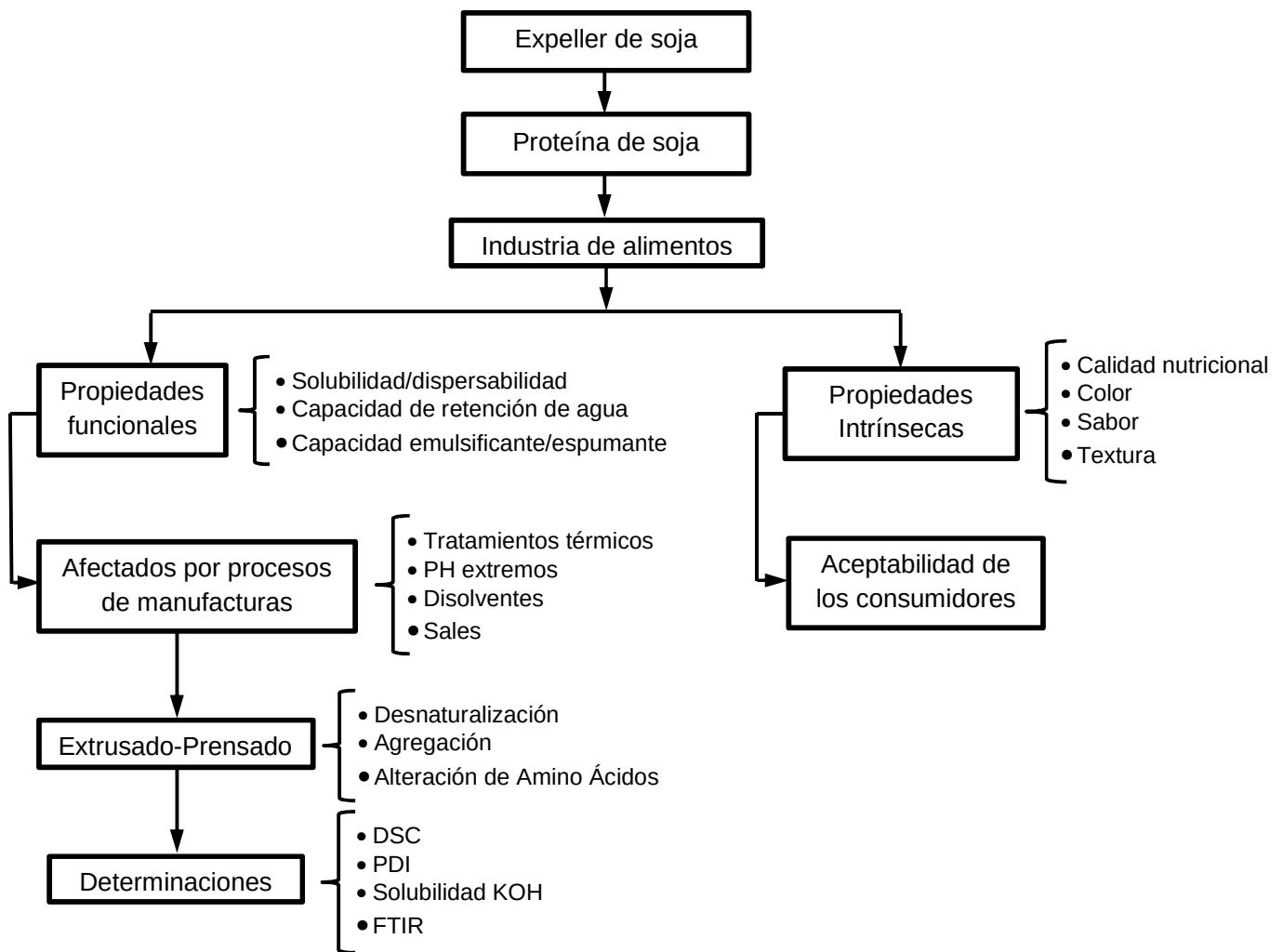


Figura 31. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de los contenidos que se muestran en la introducción del Capítulo IV

El secado artificial del poroto de soja previo a su procesamiento es una práctica muy extendida. La humedad de comercialización típica de la soja es de 13,5% (b.h.), mientras que la humedad óptima de procesamiento es sensiblemente inferior, por lo que el poroto es secado en secadoras continuas a alta temperatura (90 - 100 °C) previo a su procesamiento. Si bien el proceso de secado ha sido ampliamente estudiado desde el punto de vista de la eficiencia energética (Oliveira y Haghighi, 1998), no se han reportado trabajos relacionados al efecto del secado sobre parámetros de calidad relacionados a la funcionalidad de las proteínas.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 10) Evaluar los cambios estructurales y la funcionalidad de las proteínas de soja luego del proceso de extrusado-prensado
- 11) Analizar la influencia de la temperatura del aire de secado del grano de soja sobre la composición y funcionalidad de las proteínas del poroto y del expeller

7.3. MATERIALES Y MÉTODOS

7.3.1. Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas de soja

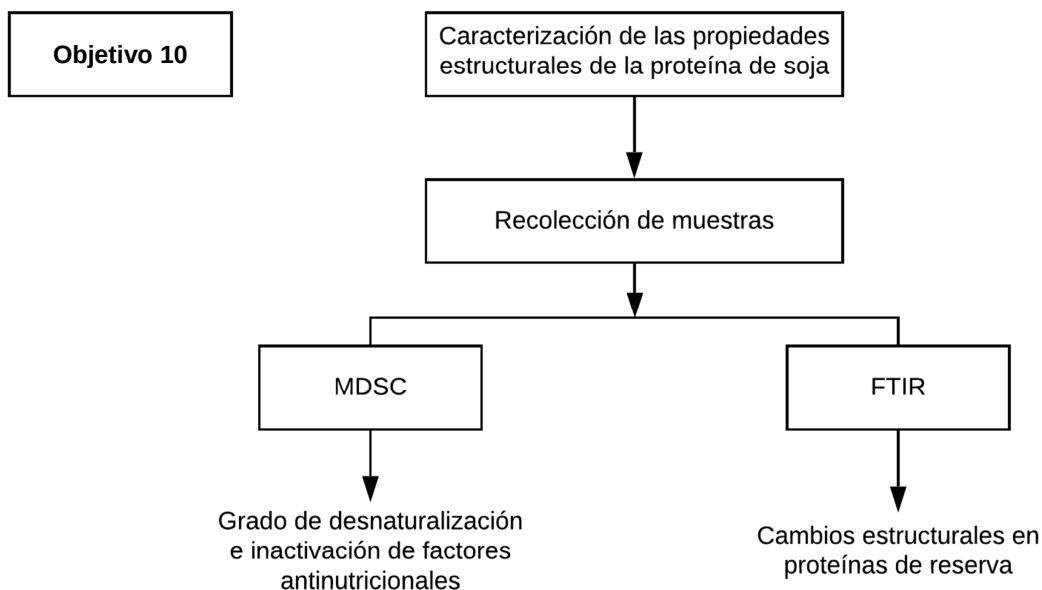


Figura 32. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de la secuencia lógica de las actividades desarrolladas para llevar a cabo el objetivo 10 del Capítulo IV

7.3.1.1. Recolección y acondicionamiento de las muestras

Los ensayos de caracterización se realizaron con los mismos pares de muestras de poroto y expeller de soja que fueron recolectados de diferentes plantas de E-P, localizadas en las principales regiones productivas de la Argentina, como se describió en la sección 4.3.1. del Capítulo I.

Las muestras de poroto y expeller se molieron mediante un molino KN 195 Knifetec™ (FOSS, Dinamarca) y se tamizaron con un tamiz (Zonytest) N° 25 (0,71 mm) según lo establecido por la norma XIX para subproductos oleaginosos (SAGPyA, 1999).

7.3.1.2. Calorimetría diferencial de barrido modulada

Para realizar el análisis de calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) se utilizó un equipo MDSC Q200 (TA Instruments, EEUU). Los estudios se

realizaron sobre dispersiones preparadas a partir de las muestras de poroto y expeller acondicionadas. Las dispersiones analizadas se prepararon en una concentración de 30% (p/p) en agua y en NaCl 1 M. Para el análisis se utilizaron cápsulas herméticas estándar con 10-15 mg de dispersión, y se calentaron a 5 °C/min desde 20 hasta 120 °C, con una modulación de $\pm 0,50$ °C cada 50 segundos. Como referencia se utilizó una cápsula vacía.

En los termogramas obtenidos se determinaron la temperatura de pico (T_p , °C) y la entalpía parcial de cada transición, así como la entalpía total de desnaturalización proteica con el trazado de una línea de base. Las entalpías se expresaron en J/g de proteína seca.

7.3.1.3. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Se obtuvieron los espectros de absorbancia por FTIR para los pares de muestras de poroto y expeller molidas y tamizadas previamente. Se utilizó un equipo FTIR (Shimatzu, IR Affinity-1, USA) y el accesorio de reflexión total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés). Para el análisis se establecieron las siguientes condiciones de medida: Apodización Happ-Genzel, 25 barridos, una resolución de 4 cm^{-1} y analizando el rango del espectro de 650 a 4000 cm^{-1} . El análisis de los espectros se realizó mediante la utilización del software específico IR Solution y realizando una serie de tratamientos a los datos obtenidos. En primer lugar se realizó un smoothing, posteriormente se alinearon los datos por sustracción hasta un nivel de 0 y finalmente se realizó una deconvolución. De esta manera se estandarizaron los tratamientos realizados a los datos para proceder al análisis de los mismos.

7.3.2. Tratamientos de secado de granos de soja

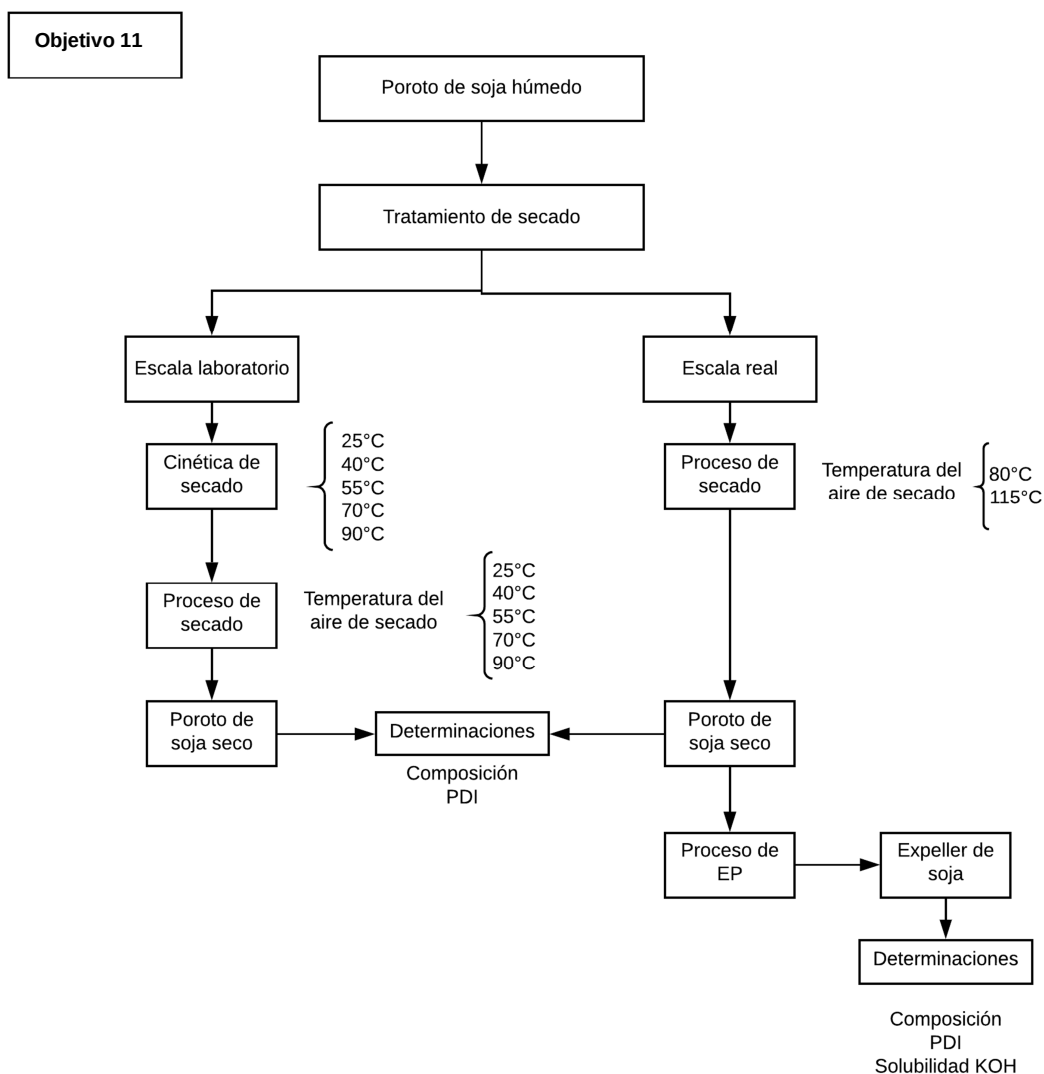


Figura 33. Diagrama conceptual confeccionado para la comprensión de la secuencia lógica de las actividades desarrolladas para llevar a cabo el objetivo 11 del Capítulo IV

7.3.2.1. Tratamientos de secado de granos de soja en capa delgada a escala laboratorio

7.3.2.1.1. Selección y preparación de las muestras de poroto de soja

Los tratamientos de secado a escala laboratorio se realizaron utilizando una muestra de poroto de soja proporcionada por la Red Nacional de Cultivares de Soja (RECSO) (convenio de asistencia técnica INTA - Asociación de Semilleros

Argentinos). Se realizó la limpieza de las muestras de poroto de soja eliminando granos dañados, negros y todo el material extraño que pueda afectar las determinaciones. Para ello se realizó la separación mediante la utilización de una zaranda patrón para separación de granos quebrados de maíz, con agujeros circulares de 4,76 mm de diámetro ($\pm 0,013$ mm), detección visual y remoción de partículas indeseadas. La muestra limpia se dividió en 15 sub-muestras de aproximadamente 2 kg. A cada sub-muestra se le asignó un tratamiento de secado por triplicado siguiendo un diseño completamente aleatorizado.

Una vez realizados los tratamientos de secado, se procedió a realizar la preparación de las muestras para su posterior análisis. Para ello, las muestras se molieron mediante un molino KN 195 Knifetec™ (FOSS, Dinamarca) y se tamizaron con un tamiz (Zonytest) N° 25 (0,71 mm). La molienda y el tamizado se realizaron con el fin de obtener el tamaño de partícula necesario para el análisis, según lo establecido por la norma XIX para subproductos oleaginosos (SAGPyA, 1999).

7.3.2.1.2. Curvas de cinética de secado a escala laboratorio

Una muestra de poroto de soja de humedad inicial conocida, determinada por el método de estufa, se utilizó para obtener las curvas de cinética de secado a diferentes temperaturas. Para cada determinación se colocaron en forma de capa delgada (no más de 2 capas de grano) 82 g de poroto de soja en una bandeja de malla metálica de dimensiones conocidas (10 cm x 10 cm), logrando una densidad de carga superficial de $0,82 \text{ g/cm}^2$. La muestra de poroto de soja fue colocada en estufa con circulación de aire forzado registrando la pérdida de peso de la muestra a intervalos de tiempo definido, de acuerdo con la temperatura evaluada, durante un determinado período de tiempo hasta alcanzar una relación de humedad (MR) inferior a 0,6276 obtenido a partir de la Ecuación 19. Esta relación de humedad corresponde con la humedad final que se deseaba alcanzar de 10,5% en b.h. (11,7% en b.s.) (Rafiee *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2015).

$$MR = X/X_0$$

Ecuación 19

Donde: X es la humedad de la muestra luego de un tiempo determinado de secado y X_0 es la humedad inicial de la muestra, ambas expresadas como kg de agua/kg de materia seca.

Las temperaturas del aire de secado evaluadas por triplicado fueron 25, 40, 55, 70 y 90 °C. Una vez registrada a diferentes tiempos la pérdida de peso de las muestras, se procedió a determinar el X y MR a cada tiempo evaluado.

A continuación se procedió a ajustar el modelo de Page (Rafiee *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2015) debido a su simplicidad para obtener los parámetros del mismo y poder estimar el tiempo de secado necesario para realizar los tratamientos de secado posteriores. El modelo de Page se muestra en la Ecuación 20.

$$MR = \exp(-k t^n)$$

Ecuación 20

Donde: k es un coeficiente del modelo (min^{-1}), t es el tiempo (min), y n es una constante del modelo.

7.3.2.1.3. Secado de muestras a escala laboratorio

Una vez ajustado el modelo de Page en la sección anterior, se procedió a realizar los tratamientos de secado a las temperaturas evaluadas y durante el tiempo estimado para alcanzar la humedad final deseada de 10,5% b.h. (11,7% b.s.) Para ello, una muestra de poroto de soja de humedad inicial conocida, se dividió en 15 sub-muestras de 750 g a las que se les asignó un tratamiento térmico siguiendo un diseño completamente aleatorizado. De esta manera se realizaron los 5 tratamientos térmicos por triplicado.

Para cada tratamiento de secado, se utilizó la misma estufa con circulación de aire forzado a 40, 55, 70 y 90 °C. En el caso de 25 °C el secado se realizó en laboratorio con aire acondicionado programado a esa temperatura, y fue considerado como tratamiento control.

Los 750 g de poroto de soja se colocaron en forma de capa delgada (no más de 2 capas de grano) en una bandeja de malla metálica de dimensiones conocidas (30 cm x 30 cm), logrando una densidad de carga superficial similar

a las condiciones en que se determinaron las curvas de cinética de secado ($0,83 \text{ g/cm}^2$). Cada muestra colocada en estufa se dejó durante el tiempo determinado anteriormente. Una vez finalizados los tratamientos, las muestras se colocaron en doble bolsa hermética y se dejaron estabilizar durante dos semanas a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se determinó la humedad final de las muestras por el medio de NIRS como fue descrito en la sección 4.3.2.1.2.1. del Capítulo I.

7.3.2.1.4. Efecto del secado a escala laboratorio en la calidad y funcionalidad de proteínas

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre las características del poroto de soja se evaluaron como parámetros indicativos su composición, la solubilidad proteica en KOH (que da información sobre la formación de agregados por vía covalente o indirectamente, sobre la pérdida de lisina) y la dispersabilidad proteica en agua. Este último parámetro da idea de los cambios en la funcionalidad de las proteínas.

7.3.2.1.4.1. Composición del poroto por espectroscopía en el infrarrojo cercano

La composición del poroto de soja se determinó utilizando un equipo NIRS, de acuerdo a la metodología descrita previamente en las secciones 4.3.2.1.2.1. y 4.3.2.1.2.2. del Capítulo I.

7.3.2.1.4.2. Índice de dispersabilidad de proteínas

El PDI se determinó en poroto de soja de acuerdo con el Método Oficial AOCS Ba 10a-05 (1993) con algunas modificaciones experimentales. Para ello se pesaron exactamente $2 \text{ g} \pm 0,0001$ de la muestra de poroto o expeller de soja molida y tamizada en un tubo Falcon de 50 ml de capacidad. A cada tubo con muestra se agregó 10 ml de agua destilada y se homogeneizó suavemente con una varilla de vidrio para evitar la formación de espuma. Posteriormente se adicionaron 20 ml de agua destilada, lavando la varilla para arrastrar posibles restos de muestra. Cada dispersión formada se sometió a una homogeneización utilizando un homogeneizador rotor/estator de alta velocidad

(ULTRA-TURRAX T-25, rotor S-25N-8G, IKA Labortechnik, Staufen, Alemania), a 11000 rpm durante 1 minuto a temperatura ambiente. Luego de preparar la suspensión, se tapó el tubo y se colocó en una centrifuga durante 20 minutos a 3000 rpm (800xg) a temperatura ambiente. Posteriormente, se separó el sobrenadante y se tomó una alícuota de 1 ml de muestra dispersa para ser analizada por el método de micro-Kjeldahl, con la finalidad de determinar su contenido de proteínas. Por otro lado, se determinó el contenido de nitrógeno por el método de micro-Kjeldahl de aproximadamente 150 mg de la muestra de poroto o expeller molida y tamizada, para calcular el contenido de proteína total.

El contenido de nitrógeno total se determinó mediante el método de micro-Kjeldahl de acuerdo al Método 984.13 (AOAC, 1997) con algunas modificaciones experimentales. Se pesaron aproximadamente 150 mg de muestras sólidas y se tomó una alícuota de 1 ml de muestras líquidas (dispersiones) y se colocaron en un tubo de digestión, al que se le adicionaron aproximadamente 1,1 g de mezcla catalizadora (sulfato de potasio, sulfato pentahidratado de cobre y selenio, en una relación 100:20:2) y 3 ml de ácido sulfúrico concentrado (98% de pureza). Para realizar la mineralización de las muestras, se utilizó una unidad digestora de 40 tubos (Digestión System 4.0-1016 Digester, Tekator, Suecia). Se colocaron los tubos y se digirieron a 360°C por tres horas. Luego se retiraron del digestor, verificando que las muestras se tornaran de color verde esmeralda límpidas.

Para realizar la destilación de las muestras digeridas se utilizó un destilador por arrastre de vapor. Las muestras digeridas se diluyeron con agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 20 ml en el caso de las muestras líquidas y 25 ml en el caso de las muestras sólidas. Antes de comenzar cada destilación se colocó debajo del refrigerante un erlenmeyer de 125 ml conteniendo 30 ml de ácido bórico al 4% con 3 gotas de la mezcla de los indicadores verde de bromocresol (0,1% p/v) y rojo de metilo (0,15% p/v) en alcohol etílico 96%. A la salida del refrigerante se le adicionó una manguera con la finalidad de recoger el nitrógeno liberado y que este sea burbujeado en el ácido bórico. De cada muestra se tomó una alícuota de 10 ml y se colocó en un balón de destilación. Posteriormente, se agregaron 10 ml de hidróxido de sodio (40% p/v) para

alcalinizar el medio y se cerró el circuito rápidamente (para prevenir el escape de vapor) y se inició la destilación hasta recoger aproximadamente 100 ml de destilado. Finalmente, se realizó la titulación en forma manual del borato de amonio formado durante la destilación de las muestras, con una solución valorada de ácido sulfúrico 0,01N hasta observar el viraje del indicador (de verde a rosa pálido).

El contenido de nitrógeno total (NT) en las muestras, expresado como porcentaje, se calculó mediante la siguiente expresión:

$$NT (\%) = ((V_M - V_B) \times N \times 0,014 \times V_A/V_F \times P_M) \times 100 \quad \text{Ecuación 21}$$

Donde: V_M es el volumen de ácido sulfúrico gastado para la titulación de la muestra, V_B es el volumen de ácido sulfúrico gastado para la titulación del blanco, N es la normalidad del ácido sulfúrico (0,01N), V_A es el volumen de la alícuota destilada, V_F Volumen final de dilución de la muestra digerida y P_M es el peso seco de la muestra sólida o el peso de la muestra que hay en 1 ml de muestra líquida, según corresponda.

El contenido de proteína (CP) de las muestras sólidas o líquidas se calculó aplicando un factor de conversión al porcentaje de nitrógeno total, considerando el factor experimental 6,25 para poroto de soja, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$CP (\%) = NT (\%) \times 6,25 \quad \text{Ecuación 22}$$

Para determinar entonces el PDI de las muestras de poroto de soja se procedió a realizar los cálculos utilizando la siguiente expresión:

$$PDI (\%) = CP_D (\%)/CP_M (\%) \times 100 \quad \text{Ecuación 23}$$

Donde: PDI es el índice de dispersabilidad de la proteína expresado como porcentaje, CP_D es el contenido de proteína de la dispersión y CP_M es el contenido de proteína de la muestra sólida utilizada para preparar la dispersión.

7.3.2.2. Tratamientos de secado a escala real

7.3.2.2.1. Secado de poroto de soja a escala real y muestreo

Los tratamientos de secado a escala real se realizaron en la planta de E-P, en la que se realizaron los ensayos del Capítulo II, localizada en la localidad de Balcarce. Con la finalidad de evaluar el efecto de la temperatura de secado del poroto de soja y su incidencia en la funcionalidad de las proteínas se realizaron dos tratamientos de secado a diferente temperatura. La planta de E-P cuenta con una secadora de alta temperatura de caballetes (con una capacidad de 22 m³ o 17 t aproximadamente) que permitió realizar un secado homogéneo. Además la planta cuenta con un extrusor (YPHS138 Extruder, Anyang General International, China) con una capacidad de 0,8-1,5 t/h y dos prensas (OIL PRES ZX-130H, Anyang General International, China) con una capacidad de 0,4-0,5 t/h cada una.

Dos lotes de poroto de soja se sometieron a dos tratamientos térmicos de 80 y 115 °C, siendo éstas las temperaturas mínima y máxima que permite alcanzar en el aire de secado el equipamiento disponible (usualmente la secadora es operada a 115 °C). El secado del poroto fue realizado hasta alcanzar una humedad del grano de alrededor de 9,9% (b.s.) (9% b.h.), contenido de humedad que permite alcanzar la mayor eficiencia de extracción de acuerdo a lo determinado en el Capítulo II. Para ello, dos lotes de poroto de soja de 17 t cada uno se sometieron a los tratamientos de secado, partiendo de una humedad inicial de alrededor de 15-17% (b.h.), hasta alcanzar la humedad final deseada. La humedad del poroto obtenido en una de las salidas de la secadora se fue controlando con un medidor portátil (Tesda, Plus 2, Argentina) para determinar el punto final del secado. Los tiempos de secado fueron 4:40 hs para 80 °C (inferior al tiempo que se necesitó para alcanzar la misma humedad en el ensayo realizado en el Capítulo II debido a condiciones climáticas más favorables) y 4:00 hs para 115 °C. Cada lote permaneció en la secadora apagada hasta el día siguiente. Luego del secado, cada lote de poroto de soja fue almacenado en un silo de estabilización por alrededor de 24 - 48 hs previo a su procesamiento en la planta de E-P.

Dado que el interés del tratamiento térmico radica en evaluar si este afecta la estructura secundaria de las proteínas y por lo tanto, las propiedades funcionales de las mismas, se realizó la medición de la temperatura alcanzada por el grano durante y en el final del tratamiento de secado. Para ello se colocó una muestra de soja de aproximadamente 1 kg, extraída de una boca de salida de la secadora en funcionamiento, en un termo cerrado. Se dejó reposar 5 minutos y se procedió a la lectura de la temperatura con un termómetro ensamblado para evitar pérdidas de calor.

Cada lote de soja almacenado en silo fue procesado en tres días de producción en la planta de E-P, razón por la cual se tomaron los pares de muestras del poroto que ingresa a la extrusora y el expeller producido durante los tres días consecutivos de procesamiento de acuerdo a lo descrito en la sección 4.3.1. del Capítulo I. De cada día de muestreo se conformó una muestra compuesta de poroto y de expeller a partir de la toma de 4 sub-muestras recogidas con una diferencia de 15 - 20 minutos. De esta manera se logró obtener la mayor variabilidad posible de cada lote de soja procesado. Los pares de muestras compuestas (poroto y expeller) se llevaron inmediatamente al Laboratorio de Poscosecha de Granos de la EEA INTA Balcarce para su procesamiento y análisis.

Durante los muestreos se registraron la temperatura alcanzada en las diferentes secciones de la extrusora y la velocidad de alimentación/circulación en el equipo.

7.3.2.2.2. Preparación de las muestras de poroto y expeller de soja

Antes de realizar los análisis, las muestras de poroto y expeller de soja fueron sometidas a una limpieza y homogeneización de manera similar a la descrita en la sección 4.3.2.1. del presente Capítulo con el fin de obtener el tamaño de partícula necesario para realizar los análisis posteriores, siguiendo las especificaciones establecidas por la norma XIX para subproductos oleaginosos (SAGPyA, 1999).

7.3.2.2.3. Efecto del secado a escala real en la calidad y funcionalidad

7.3.2.2.3.1. Composición del poroto y expeller de soja por espectroscopía en el infrarrojo cercano

La composición del poroto y expeller de soja se determinó utilizando un equipo NIRS, de acuerdo a la metodología descrita previamente en las secciones 4.3.2.1.2.1., 4.3.2.1.2.2. y 4.3.3.2.1.1. del Capítulo I.

7.3.2.2.3.2. Solubilidad proteica en hidróxido de potasio

La solubilidad de la proteína en KOH se determinó mediante NIRS en las muestras de expeller obtenidas luego del tratamiento de secado, de acuerdo a la metodología descrita previamente en la sección 4.3.3.2.2.3. del Capítulo I.

7.3.2.2.3.3. Índice de dispersabilidad de proteínas

Para evaluar el efecto del tratamiento térmico se evaluó el PDI de las muestras de poroto y expeller de soja de manera similar a la descrita en la sección 4.3.2.4.2. del presente Capítulo.

7.3.3. Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre el PDI de las muestras de poroto y expeller se ajustaron modelos lineales, se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias ($p < 0,05$). Para ellos se utilizó el paquete “emmen” del software estadístico RStudio (versión 0.99.903) (R Core Team, 2018).

7.4. RESULTADOS

7.4.1. Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas

7.4.1.1. Calorimetría diferencial de barrido modulada

Como se mencionó en la metodología, las determinaciones se realizaron sobre dispersiones acuosas y en cloruro de sodio (NaCl) (1 M) en una concentración al 30% (p/p). Si bien se analizaron los resultados obtenidos en ambas condiciones, sólo se muestran en este trabajo los termogramas obtenidos con las dispersiones en NaCl. En NaCl 1 M se logra detectar el pico correspondiente a KTI, dado que aumenta la estabilidad térmica de las fracciones 7S y 11S, las cuales se desnaturalizan a mayor temperatura.

En la Figura 34 se muestran los termogramas MDSC de los pares de muestras de poroto y expeller de soja dispersos en NaCl. De acuerdo con la información recopilada de otros autores, se identificaron cada uno de los picos obtenidos en los termogramas para el caso de las muestras de poroto de soja dispersas en NaCl (1 M). El pico 1 corresponde KTI, a la fracción más importante de la ureasa y a la fracción más termolábil del BBTI (Sorgentini y Wagner, 1999). El pico 2 corresponde a la desnaturalización de la globulina de reserva 7S y a una segunda fracción de la ureasa. Además la α -amilasa y lipoxigenasa son proteínas con actividad enzimática que podrían contribuir al pico 2, ya que tienen temperaturas de inactivación por debajo de los 90 °C (Kwok y Niranjana, 1995). Finalmente el pico 3 corresponde a la desnaturalización de la globulina de reserva 11S, de la lectina y de la fracción más termoestable de BBTI (Sorgentini y Wagner, 1999).

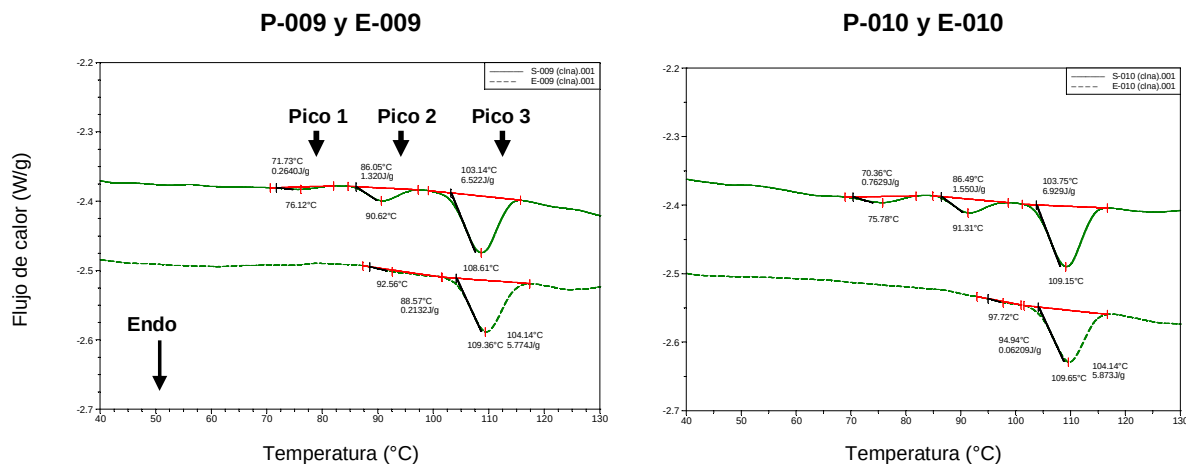
En la Tabla 25 se muestran las temperaturas de los picos descriptos anteriormente para dispersiones en agua y en NaCl. Aquí vemos que en todos los casos los picos se desplazan hacia mayores temperaturas cuando las dispersiones son realizadas en NaCl debido a que las proteínas se hacen más termoestables por efecto de la alta fuerza iónica (Sorgentini y Wagner, 1999).

Tabla 25. Temperaturas de los picos para dispersiones en agua y en NaCl (1 M)

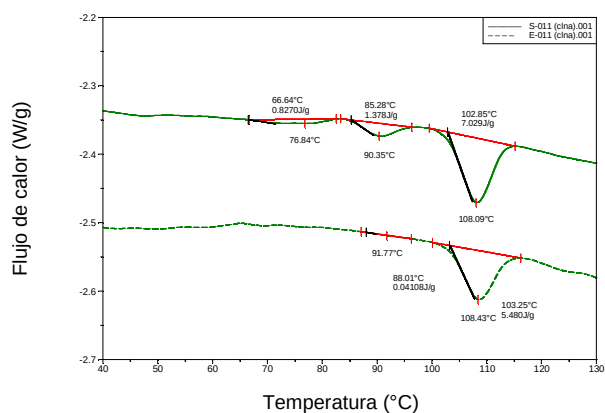
Picos	Fracciones	Tp en agua	Tp en NaCl
1	KTI	75,7 ± 0,1	82,5 ± 0,1
	Ureasa ₁	68-70	---
	BBTI ₁	77,1 ± 0,3	79,5 ± 0,4
2	7S	77,5 ± 0,5	95,2 ± 0,6
	Ureasa ₂	87,1 ± 0,4	92,3 ± 0,3
3	11S	91,0 ± 0,4	111,0 ± 0,5
	Lectina	92,8	95,6
	BBTI ₂	110-111	---

Nota: tabla de elaboración propia con información extraída de Sorgentini y Wagner (1999). Tp es la temperatura del pico

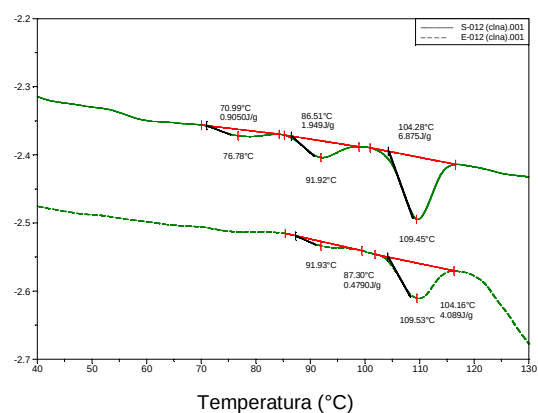
En todos los casos presentados en la Figura 34 se observaron tres picos en poroto (asignándoles los nombres de pico 1, 2 y 3 en función del orden de aparición y del rango de temperatura en el que aparece) y uno o dos picos en expeller (siguiendo el mismo orden). Se puede apreciar la desaparición del pico 1 en las muestras de expeller de soja (E) comparativamente con su correspondiente muestra de materia prima (P=poroto de soja), que corresponde a KTI. A su vez, en algunas muestras también puede verse una reducción o desaparición del pico 2. Los picos 2 y 3 corresponden mayoritariamente a las proteínas de reserva 7S y 11S, respectivamente.



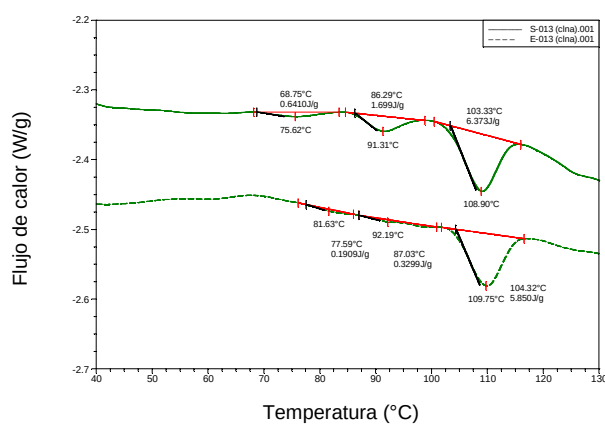
P-011 y E-011



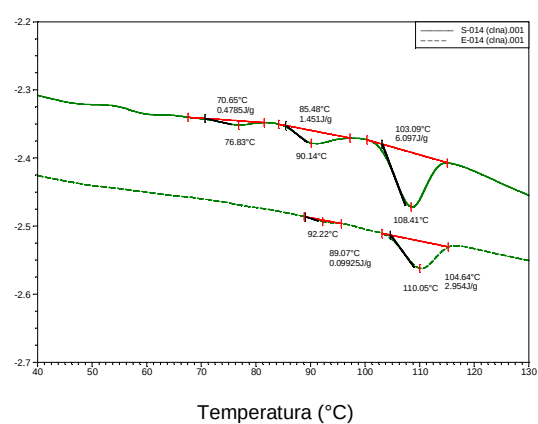
P-012 y E-012



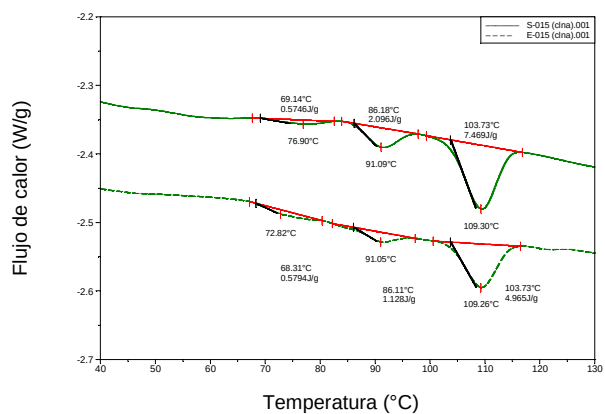
P-013 y E-013



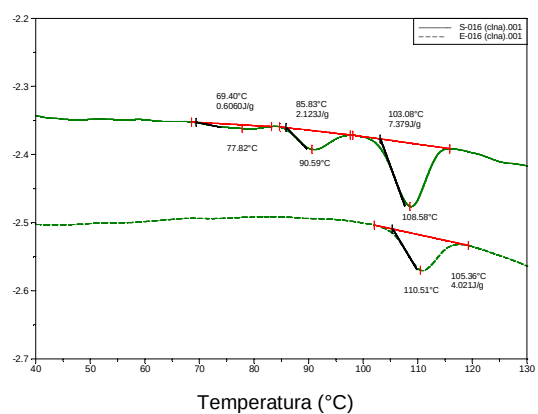
P-014 y E-014



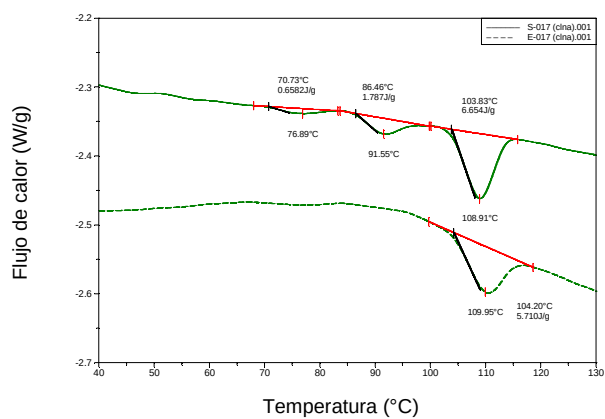
P-015 y E-015



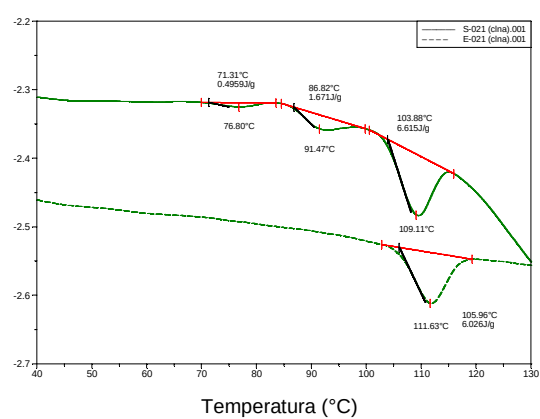
P-016 y E-016



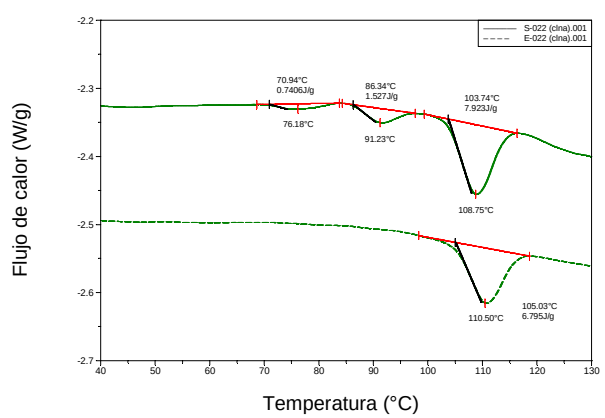
P-017 y E-017



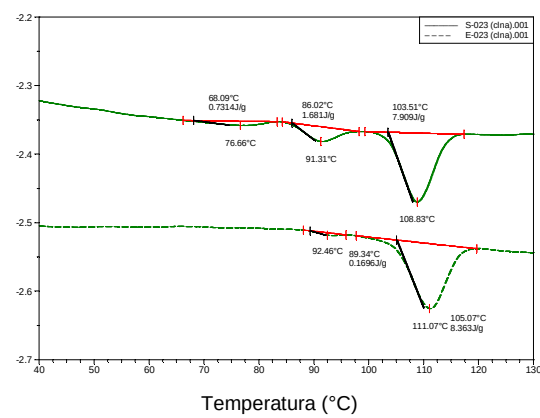
P-021 y E-021



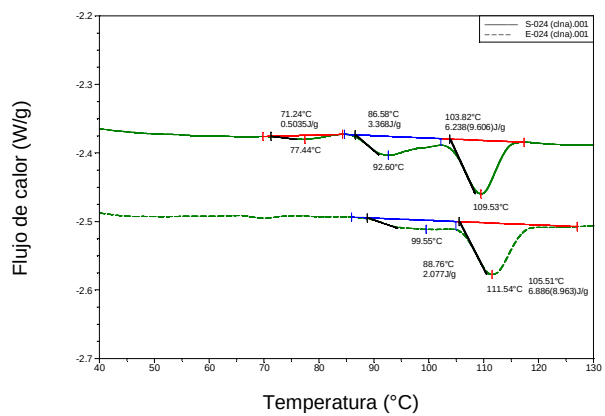
P-022 y E-022



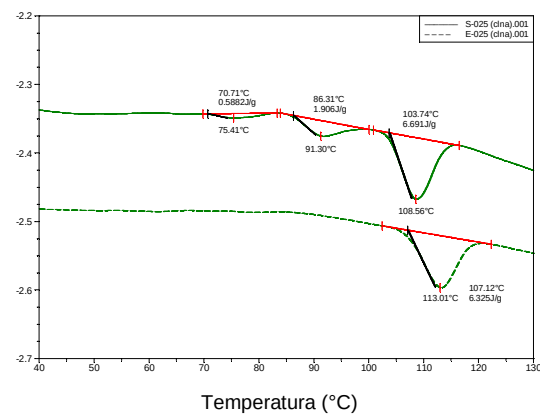
P-023 y E-023



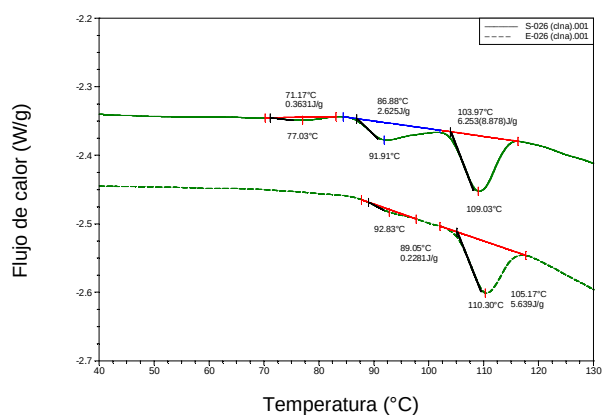
P-024 y E-024



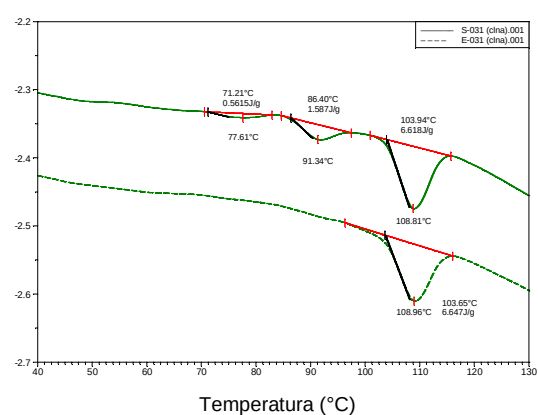
P-025 y E-025



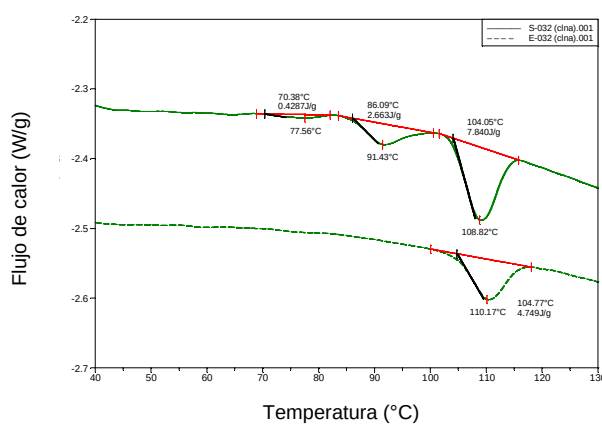
P-026 y E-026



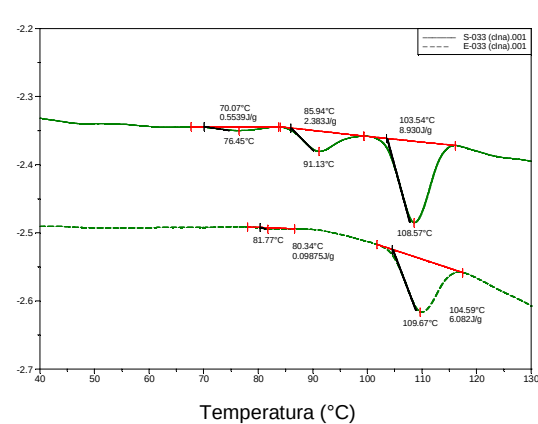
P-031 y E-031



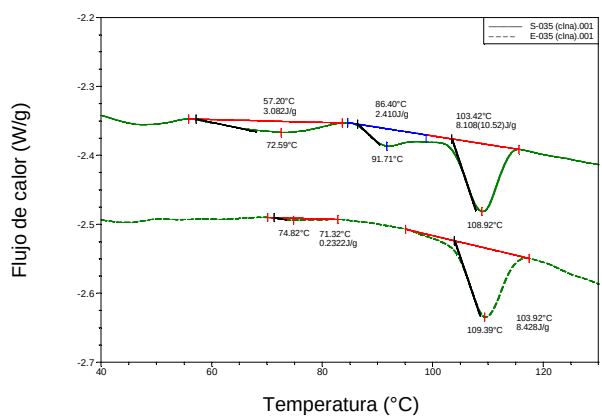
P-032 y E-032



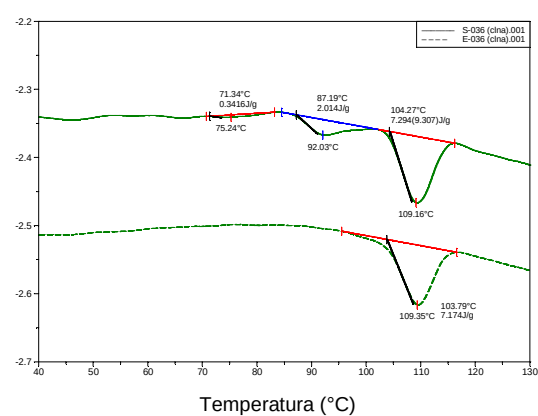
P-033 y E-033



P-035 y E-035



P-036 y E-036



P-037 y E-037

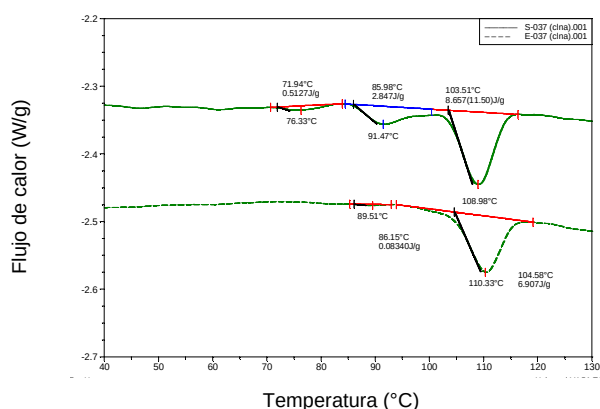


Figura 34. Termogramas de dispersiones en NaCl (1 M) de muestras de poroto (línea sólida superior) y expeller de soja (línea punteada inferior) recolectadas en distintas plantas de E-P. La codificación P y E corresponde a muestras de poroto y expeller respectivamente, seguido de un número de tres cifras con el que fue codificada cada muestra. Los picos hacia abajo representan picos endotérmicos

En la Tabla 26 se muestran las entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica para los pares de muestras de poroto y expeller dispersos en NaCl. Aquí se puede observar que en todas las muestras de poroto analizadas se obtuvieron los picos 1, 2 y 3. Por su parte en la mayoría de las muestras de expeller, es decir luego del proceso de E-P, se observa una reducción en todos los picos, pero fundamentalmente del pico 1, que se corresponde casi exclusivamente a la desnaturalización del factor antitriptico de Kunitz, KTI (Sorgentini y Wagner, 1999). El ΔH total indica el estado general de la muestra. El ΔH fue menor en todos los casos en expeller respecto del poroto, evidenciando un proceso de desnaturalización durante el proceso E-P. A partir de las entalpías totales de cada producto (P y E) se calculó el grado de desnaturalización (expresado como %) causado por el proceso de E-P. El grado de desnaturalización de las muestras analizadas se encontró entre 11,4 y 60,2%, para muestras sometidas a una temperatura de extrusado de 100 y 168 °C, respectivamente como se muestra en la Tabla 26.

Tabla 26. Entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica en poroto y expeller de soja disperso en NaCl (1 M), correspondientes a los termogramas obtenidos

Muestra	ΔH (J/g de proteína seca)				Grado de desnaturalización de E respecto de P (%)	Temperatura de extrusado (°C)
	ΔH parcial			ΔH total		
	Pico 1	Pico 2	Pico 3			
P-009	0,26	1,32	6,52	8,11	26,1	130
E-009	---	0,21	5,77	5,99		
P-010	0,76	1,55	6,93	9,24	35,8	130
E-010	---	0,06	5,87	5,93		
P-011	0,83	1,38	7,03	9,23	40,2	130
E-011	---	0,04	5,48	5,52		
P-012	0,91	1,95	6,88	9,73	53,0	*
E-012	---	0,48	4,09	4,57		
P-013	0,64	1,70	6,37	8,71	26,9	*
E-013	0,19	0,33	5,85	6,37		
P-014	0,48	1,45	6,10	10,14	34,2	*
E-014	---	0,08	2,15	6,67		
P-015	0,57	2,10	7,47	10,14	34,2	168
E-015	0,58	1,13	4,97	6,67		
P-016	0,61	2,12	7,38	10,11	60,2	168
E-016	---	---	4,02	4,02		
P-017	0,66	1,79	6,65	9,10	37,2	168
E-017	---	---	5,71	5,71		
P-021	0,50	1,67	6,62	8,78	31,3	130
E-021	---	---	6,03	6,03		
P-022	0,74	1,53	7,92	10,19	33,3	130
E-022	---	---	6,80	6,80		
P-023	0,73	1,68	7,91	10,32	17,3	130
E-023	---	0,17	8,36	8,53		
P-024	0,50	3,37	6,24	10,11	11,4	100
E-024	---	2,08	6,89	8,96		
P-025	0,59	1,91	6,69	9,19	31,1	138
E-025	---	---	6,33	6,33		
P-026	0,36	2,63	6,25	9,24	36,5	138
E-026	---	0,23	5,64	5,87		
P-031	0,56	1,59	6,62	8,77	24,2	138
E-031	---	---	6,65	6,65		
P-032	0,43	2,66	7,84	10,93	56,5	*
E-032	---	---	4,75	4,75		
P-033	0,55	2,38	8,93	11,87	47,9	*
E-033	0,10	---	6,08	6,18		
P-035	3,08	2,42	8,11	13,61	36,4	*
E-035	0,23	---	8,43	8,66		
P-036	0,34	2,01	7,29	9,65	25,7	*
E-036	---	---	7,17	7,17		
P-037	0,51	2,85	8,66	12,02	41,8	*
E-037	0,08	---	6,91	6,99		

Nota: ΔH es la entalpía de desnaturalización térmica, S es poroto de soja y E es expeller de soja. (*) Indica que la temperatura de extrusado no fue registrada

Los valores de las entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica correspondientes a las muestras de poroto y expeller de soja dispersos en agua se muestran en la Tabla 27. El ΔH total fue menor en todas las muestras de expeller analizadas respecto de las muestras de poroto, poniendo en evidencia la desnaturalización que ocurre durante el proceso E-P, al igual que las muestras dispersas en NaCl. Se puede apreciar que en todos los casos los picos se desplazan hacia mayores temperaturas cuando las dispersiones son realizadas en NaCl debido a que las proteínas se hacen más termoestables por efecto de la alta fuerza iónica. En dispersiones acuosas los picos corresponden a las endotermas de desnaturalización de las proteínas de reserva de soja (7S y 11S, con valores de temperatura de pico que oscilan entre $77,6 \pm 1,2$ °C y $90,5 \pm 1,6$ °C, respectivamente). En estas condiciones, estas endotermas se superponen con las de las proteínas mayoritarias del suero de soja (KTI y lectina, con valores de temperatura de pico que oscilan entre $74,0 \pm 0,3$ °C y $90,4 \pm 0,8$ °C, respectivamente) (Sorgentini y Wagner, 1999; Wagner y Añon, 1990). Dado que los resultados obtenidos en dispersiones preparadas con NaCl hacen que las proteínas se vuelvan más termoestables y permiten visualizar mejor los picos endotérmicos correspondientes como se mencionó anteriormente, es que se decidió discontinuar el análisis de las muestras dispersas en agua.

Tabla 27. Entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica en poroto y expeller de soja disperso en agua, correspondientes a los termogramas obtenidos

Muestra	ΔH (J/g de proteína seca)			ΔH total
	ΔH parcial			
	Pico 1	Pico 2	Pico 3	
P-021	0,72	2,62	6,60	9,94
E-021	0,42	---	8,15	8,57
P-022	---	1,62	6,70	8,32
E-022	---	0,48	5,47	5,95
P-024	---	1,41	5,27	6,68
E-024	---	---	4,11	4,11
P-025	---	3,84	8,55	12,39
E-025	---	---	6,03	6,03
P-026	---	2,38	7,69	10,06
E-026	---	---	5,73	5,73
P-031	---	1,55	4,59	6,14
E-031	---	---	5,65	5,65

Nota: ΔH es la entalpía de desnaturalización térmica, S es poroto de soja y E es expeller de soja

7.4.1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Con la finalidad de evaluar si hubo cambios estructurales en las proteínas presentes en el expeller de soja respecto del poroto original, se analizaron mediante FTIR los pares de muestras. En la Figura 35 se muestran los espectros de FTIR en el rango de número de onda donde se encuentran los picos característicos de proteínas y lípidos (Singh, 2000). En dicha figura se pueden apreciar los cambios más importantes que se detectan en las muestras de expeller (línea inferior) respecto del poroto (línea superior). Estos cambios pueden ser atribuidos a que hay menos grupos funcionales accesibles a la radiación infrarroja, posiblemente debido a una mayor agregación proteica. Por lo tanto, es probable que en las muestras donde hay mayor disminución de la señal, haya una mayor pérdida de solubilidad.

En las Figuras 35-A (muestras P-009 y E-009) y 35-B (muestras P-011 y E-011) se muestran los espectros para dos pares de muestras que sufrieron un E-P bajo condiciones similares. Para estas muestras la temperatura alcanzada durante el extrusado no superó los 100 °C con lo cual el tratamiento térmico no generó grandes cambios estructurales en el expeller obtenido. En concordancia con estos resultados, ambas muestras de expeller (E-009 y E-011) presentaron valores de actividad ureásica por encima del límite permitido para este subproducto (0,33 y 0,28 u pH, respectivamente de acuerdo a la norma XIX (SAGPyA, 1999). Mientras que en las Figuras 35-C (muestras P-021 y E-021) y 35-D (muestras P-025 y E-025) se muestran dos pares de muestras que sufrieron un proceso de E-P alcanzando temperaturas superiores durante el extrusado (130 y 138 °C, respectivamente). Estos tratamientos térmicos más intensos permiten ver en los espectros cambios estructurales en el expeller respecto del poroto. Además, en concordancia con el tratamiento térmico aplicado, los valores de actividad ureásica demostraron que las muestras de expeller (E-021 y E-025) fueron correctamente desactivadas (ambas con valores de 0,00 u pH).

De acuerdo a la bibliografía consultada, los picos más relevantes para los constituyentes más importantes que se encuentran en soja son el pico A (con un rango de longitudes de onda entre 1720 y 1765 cm^{-1}) corresponde a la fracción de lípidos (Nzai y Proctor, 1998), el pico B (entre 1600 y 1700 cm^{-1})

corresponde a la amida I, el pico C corresponde a la amida II (entre 1500 y 1600 cm^{-1}) y el pico D corresponde a dos picos de amida III (entre 1350 y 1450 cm^{-1}) (Byler *et al.*, 1986; Singh, 2000). Además está el pico E (entre 1200 y 1300 cm^{-1}) correspondiente a los polisacáridos (Figura 35).

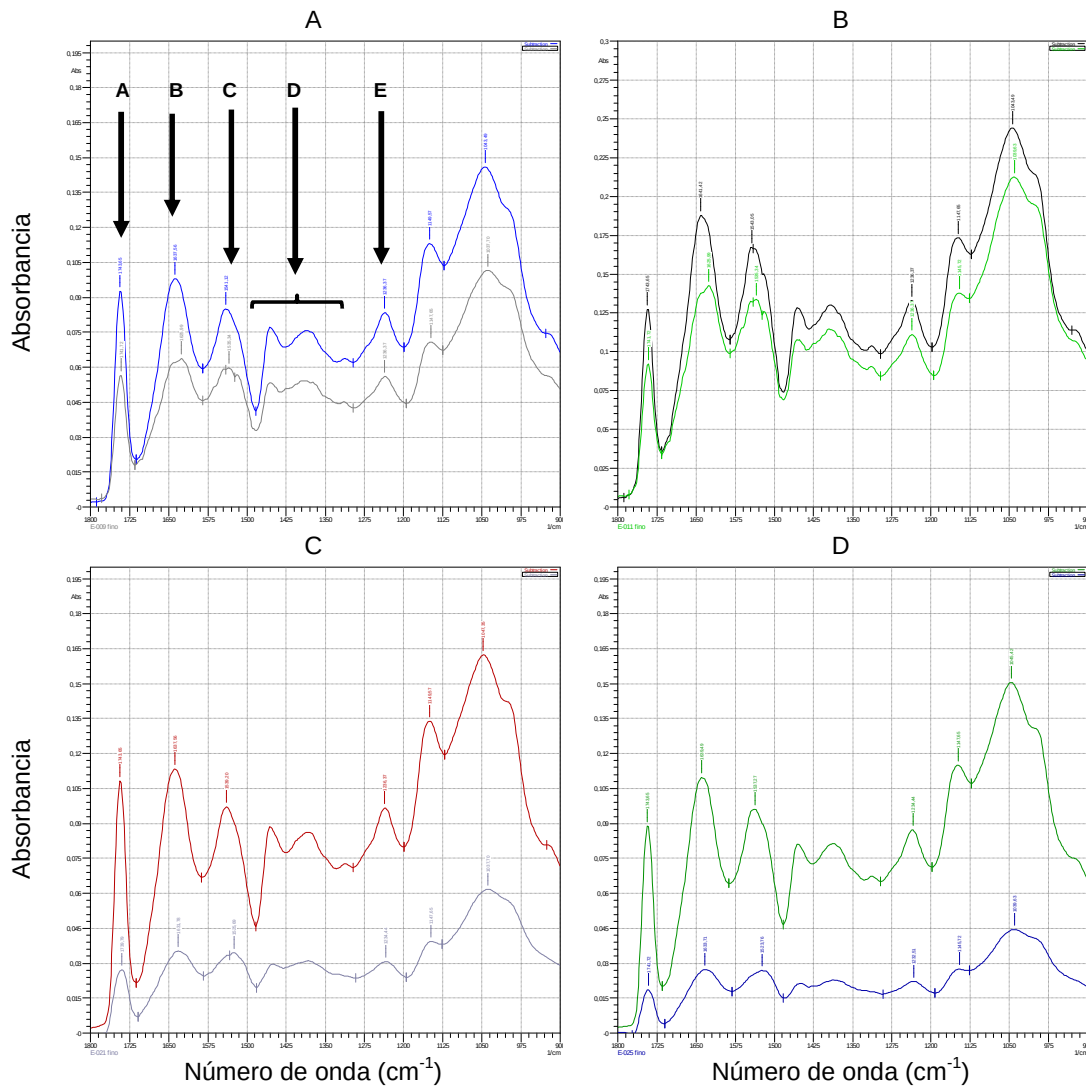


Figura 35. Espectros FTIR obtenidos para los pares de muestras de poroto (P) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, para un rango de longitudes de onda entre 900 y 1800 cm^{-1} . Las letras A, B, C y D corresponden a los espectros de los pares de muestras P-009 y E-009; P-011 y E-011; P-021 y E-021 y P-025 y E-025, respectivamente

Como se mencionó anteriormente la finalidad del análisis con FTIR fue detectar los cambios estructurales más importantes en las proteínas de soja. De esta manera se procedió a analizar más en detalle las amidas I y III, obteniendo los

picos de intensidad para cada caso. En la Figura 36 se muestra el efecto del tratamiento térmico sobre dos pares de muestras de poroto y expeller de soja. Las Figuras 36-A y 36-B muestran el efecto del procesamiento cuando el extrusado ocurre a una temperatura de alrededor de 100 °C sobre las amidas I y III, respectivamente (par de muestras P-011 y E-011). Mientras que las Figuras 36-C y 36-D muestran el efecto cuando el extrusado ocurre a una temperatura superior a los 130 °C (muestras P-021 y E-021).

En la Figura 36-A se puede apreciar que hay cambios a nivel de estructura secundaria en las proteínas del expeller (E-011), dado que se ve la desaparición del pico a 1621 cm^{-1} . Esto se corresponde con el grado de desnaturalización que se mostró anteriormente por MDSC para esta muestra (40,2%) (Tabla 26). Por otro lado, en la Figura 36-C se puede observar que el grado de desnaturalización en las proteínas del expeller (E-021) fue un poco menor (31,3%). Sin embargo, también hubo cambios a nivel de estructura secundaria observables por desaparición y corrimiento de picos en la zona $1660\text{-}1670\text{ cm}^{-1}$, y además una marcada disminución de intensidades. Esto se corresponde con la alta temperatura de tratamiento que puede producir además de desnaturalización, una avanzada agregación proteica.

La falta de una total concordancia entre los resultados MDSC y FTIR se puede deber a que además de la temperatura, entra en juego la humedad de la muestra durante el tratamiento. La mayor temperatura puede provocar una mayor pérdida de humedad durante el proceso E-P.

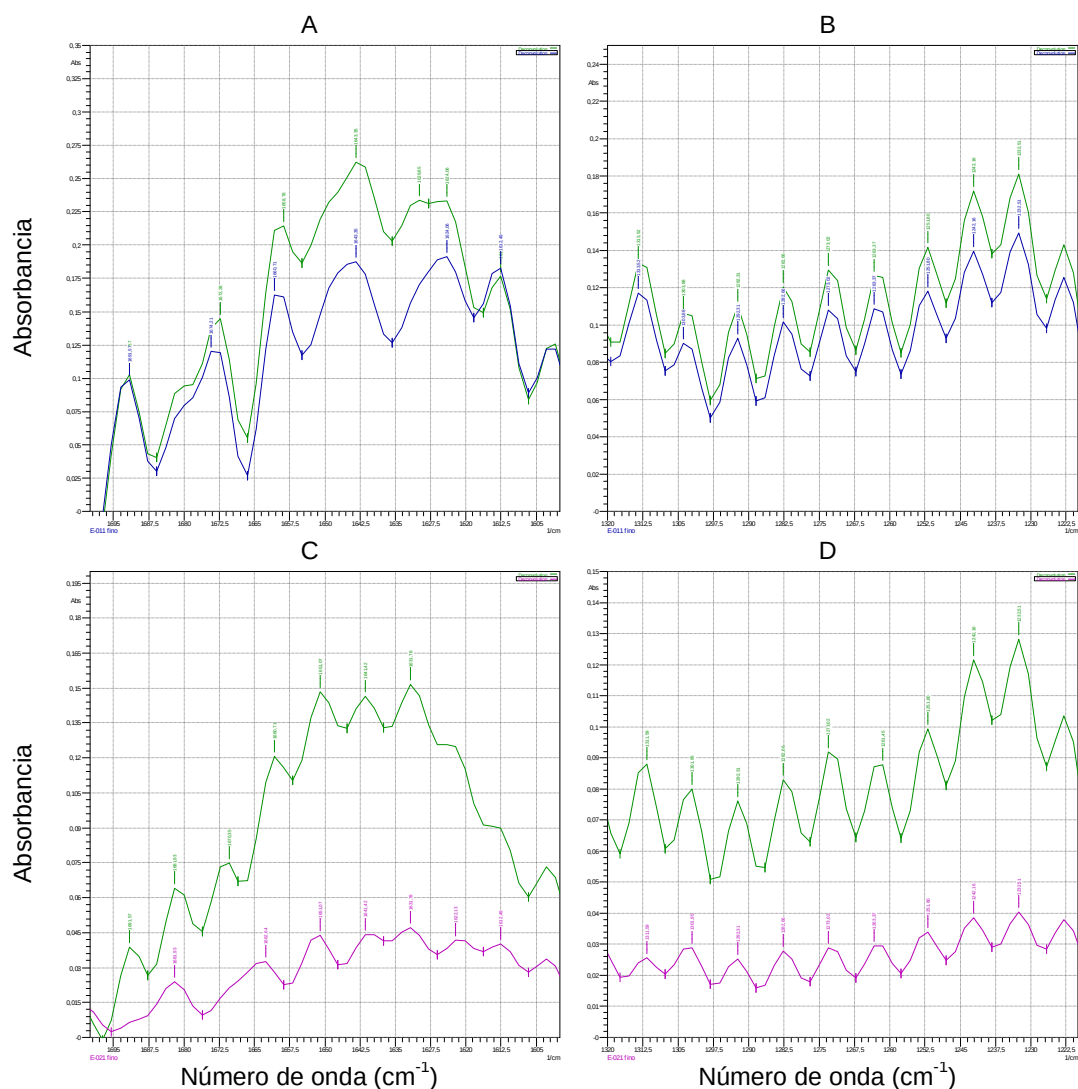


Figura 36. Espectros FTIR obtenidos para los pares de muestras de poroto (S) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, correspondientes para amida I (A y C) en longitudes de onda entre 1600 – 1700 cm^{-1} y amida III (B y D) en longitudes de onda entre 1220 - 1320 cm^{-1}

Como se describió en el Capítulo I la eficiencia de extracción de aceite en diferentes plantas de E-P puede ser muy variable, razón por la cual también varía la cantidad de aceite residual que puede contener el expeller de soja. Por esta razón se decidió analizar los espectros de FTIR de dos muestras de expeller con contenidos de aceite extremos (E-024 y E-014 con niveles de aceite de 6,2 y 15,3% b.s., respectivamente) y el cambio respecto de la materia prima utilizada (P-024 y P-014, respectivamente). En la Figura 37 se puede apreciar la diferencia entre los espectros de FTIR de los dos pares de muestras

de poroto y expeller de soja seleccionados. Aquí se pueden apreciar los picos más relevantes, correspondientes a las proteínas (denominados picos B y C), se pueden observar los cambios sufridos en las amidas I y III, además se ven también algunos cambios producidos en los picos de polisacáridos y amida II (picos D y E). Además, la diferencia más relevante se observa en el pico que corresponde a los lípidos (pico A). El pico característico de los lípidos (correspondiente a los enlaces C=O presentes en triglicéridos y fosfolípidos) (Nzai y Proctor, 1998) se reduce de manera sustancial en el expeller de soja que logró una buena eficiencia de extracción (E-024) como se muestra en la Figura 37-A, mientras que en la muestra que contiene un nivel de aceite residual elevado, se puede ver un pico casi tan pronunciado como el que presenta la muestra de poroto (P-014) representado en la Figura 37-B.

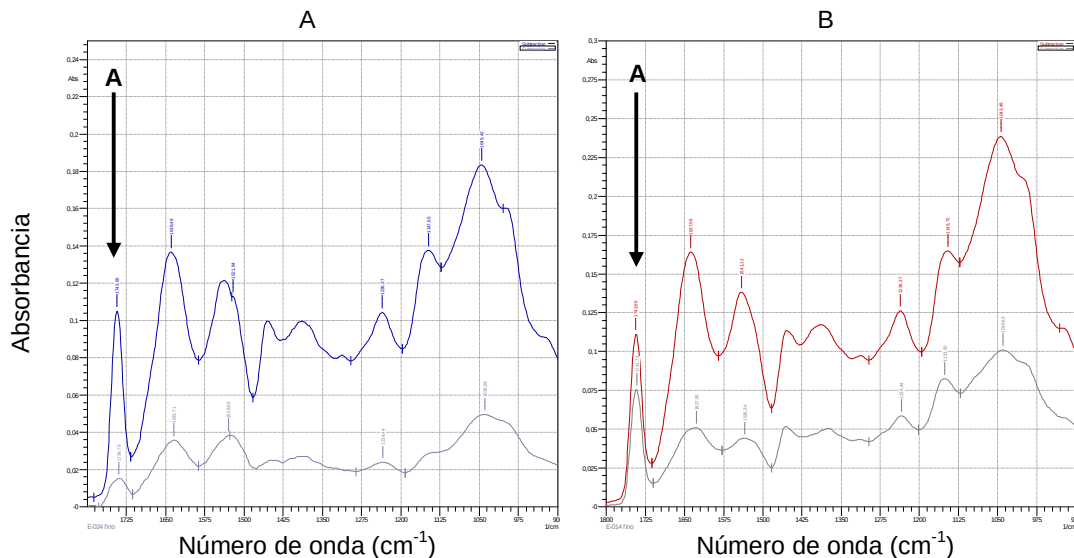


Figura 37. Espectro FTIR obtenido para pares de muestras poroto (S) en la línea superior y expeller (E) de soja en la línea inferior, con bajo nivel de aceite residual en el expeller (A) y alto nivel de aceite residual en el expeller (B)

7.4.2. Tratamientos de secado

7.4.2.1. Curvas de cinética de secado en capa delgada a escala laboratorio

Los valores promedio de MR obtenidos a lo largo de los diferentes procesos de secado de poroto de soja y los obtenidos luego del ajuste del modelo de Page

a las diferentes temperaturas del aire de secado evaluadas (25, 40, 55, 70 y 90 °C) se muestran en la Figura 38. Los valores de MR obtenidos en cada uno de los tratamientos térmicos realizados por triplicado se muestran en el Anexo XIV.

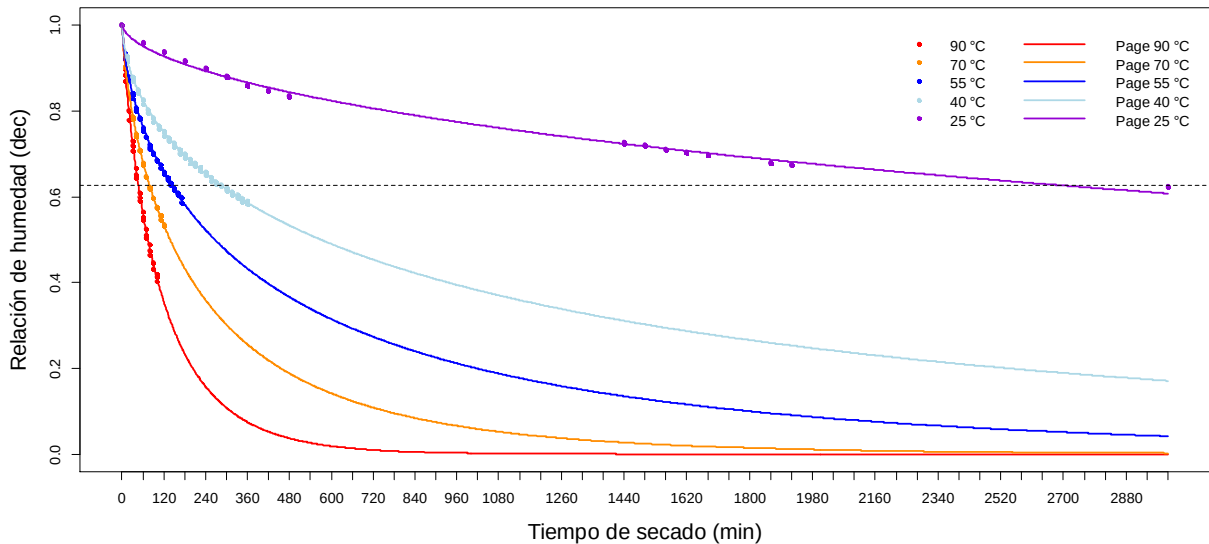


Figura 38. Valores de relación de humedad (MR) obtenidos y ajuste del modelo de Page para los diferentes tratamientos térmicos evaluados en poroto de soja

En la Tabla 28 se muestran los valores de los coeficientes del modelo de Page, ajustado para cada una de las temperaturas de secado evaluadas en este trabajo y posteriormente utilizados para hacer los cálculos de los tiempos estimados de secado.

Tabla 28. Valores de coeficiente k y constante n del modelo de Page calculados para los tratamientos térmicos evaluados

Temperatura del aire de secado (°C)	k	SE k	n	SE n
25	0,004556	0,000257	0,586260	0,007748
40	0,019478	0,000405	0,562963	0,003874
55	0,020975	0,000629	0,626865	0,006437
70	0,022015	0,000430	0,701342	0,004511
90	0,019457	0,000996	0,831666	0,012325

Nota: SE es el error estándar

7.4.2.2. Secado de muestras a escala laboratorio

A partir del ajuste del modelo de Page para cada temperatura evaluada, se estimaron los tiempos de secado necesarios para alcanzar la humedad final

deseada de poroto para diferentes niveles de temperatura. Dichos tiempos, el desvío estándar y el intervalo de confianza ($p < 0,05$) se muestran en la Tabla 29. El efecto de la temperatura fue muy notorio. Al aumentar la temperatura, el tiempo requerido para alcanzar la humedad deseada fue menor.

Tabla 29. Tiempos de secado estimados para alcanzar la humedad deseada (11,7% b.s.) para las diferentes temperaturas evaluadas con el intervalo de confianza correspondientes a la estimación ($p < 0,05$)

Temperatura del aire de secado (°C)	t estimado (min)	SE	2,5%	97,5%
25	2678,97	33,47	2613,38	2744,56
40	281,26	1,18	278,94	283,58
55	140,66	0,86	138,98	142,34
70	77,64	0,24	77,16	78,11
90	45,54	0,38	44,80	46,28

Nota: t es el tiempo estimado y SE es el error estándar

7.4.2.3. Efecto del secado a escala laboratorio

Las muestras de poroto de soja fueron sometidas a los tratamientos de secado a diferentes temperaturas y durante los tiempos determinados en la etapa anterior para cada una de ellas. Una vez realizados los tratamientos de secado se controló el contenido de humedad final que alcanzaron las muestras, como se muestra en la Tabla 30, con la finalidad de asegurar que la humedad se encuentre alrededor del valor deseado (11,7% b.s.). En la Tabla 30 se muestra la composición promedio del poroto de soja sometido a los tratamientos de secado a escala laboratorio obteniendo un contenido de humedad entre 11,3 y 12,4% (b.s.), un contenido de proteína entre 37,3 y 38% (b.s.) y un contenido de aceite entre 21,7 y 22,1% (b.s.). Estos valores de composición del poroto de soja son similares a los presentados en el Capítulo I para muestras de poroto analizadas de otros ensayos.

Tabla 30. Composición del poroto de soja medida por NIRS del poroto de soja sometido a diferentes tratamientos de secado a escala laboratorio

Muestra	Rep	CHp (% b.s.)	CPp (% b.s.)	CAP (% b.s.)
25 °C	1	13,6 ± 0,12	38,4 ± 0,05	21,8 ± 0,01
	2	11,4 ± 0,02	37,7 ± 0,07	21,7 ± 0,09
	3	11,1 ± 0,10	37,9 ± 0,11	21,7 ± 0,00
	Todas	12,0 ± 1,23 ^{ab}	38,0 ± 0,33 ^b	21,7 ± 0,07 ^a
40 °C	1	12,8 ± 0,18	37,4 ± 0,03	21,9 ± 0,03
	2	12,2 ± 0,05	38,3 ± 0,09	21,8 ± 0,07
	3	12,2 ± 0,07	37,9 ± 0,05	21,9 ± 0,04
	Todas	12,4 ± 0,31 ^b	37,8 ± 0,40 ^{ab}	21,9 ± 0,05 ^a
55 °C	1	12,0 ± 0,07	38,4 ± 0,02	21,8 ± 0,00
	2	12,1 ± 0,06	37,8 ± 0,09	22,1 ± 0,02
	3	11,7 ± 0,22	37,4 ± 0,10	21,8 ± 0,07
	Todas	11,9 ± 0,20 ^{ab}	37,8 ± 0,47 ^{ab}	21,9 ± 0,16 ^a
70 °C	1	11,4 ± 0,25	37,5 ± 0,14	22,1 ± 0,11
	2	11,2 ± 0,09	37,5 ± 0,06	21,7 ± 0,02
	3	11,3 ± 0,27	37,0 ± 0,09	21,7 ± 0,07
	Todas	11,3 ± 0,18 ^a	37,3 ± 0,29 ^a	21,8 ± 0,20 ^a
90 °C	1	11,8 ± 0,13	37,6 ± 0,02	22,5 ± 0,06
	2	11,6 ± 0,02	37,9 ± 0,10	21,7 ± 0,03
	3	11,3 ± 0,18	37,8 ± 0,04	22,0 ± 0,08
	Todas	11,6 ± 0,28 ^{ab}	37,8 ± 0,11 ^{ab}	22,1 ± 0,35 ^a

Nota: Rep es repeticiones, CHp es contenido de humedad, CPp es contenido de proteína y CAP es contenido de aceite del poroto de soja. Se muestran los valores promedios seguido de ± el desvío estándar. Letras iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del poroto para los tratamientos térmicos realizados a diferentes temperaturas ($p < 0,05$)

El PDI es frecuentemente utilizado para describir la funcionalidad de las proteínas. La Figura 39 muestra el efecto del tratamiento térmico (secado a 25, 40, 55, 70 y 90 °C) sobre la capacidad de la proteína de mantenerse dispersa en una solución acuosa. El PDI no cambia cuando la temperatura del tratamiento térmico está por debajo de los 70 °C, mientras que por encima de esta temperatura el PDI comenzó a caer. Con la finalidad de poder explicar el comportamiento observado, se ajustó un modelo bi-lineal con punto de quiebre no pre-establecido. El modelo bi-lineal con plató en la izquierda resultó ser el más simple y el que mejor ajustó para establecer una relación entre el PDI y la temperatura del aire de secado. Este modelo permitió establecer la temperatura de secado a partir de la cual el PDI comienza a disminuir, es decir, temperatura en la que se produce el quiebre en la tendencia (Ecuación 25).

La temperatura de quiebre fue de 69,2 °C ($p=2,76e^{-13}$), con lo cual, aquellos tratamientos térmicos realizados por encima de ella afectan significativamente ($p<0,05$) la estructura de las proteínas y por lo tanto se ven afectadas las propiedades funcionales ligadas a una pérdida de la solubilidad. Por debajo de la temperatura de quiebre el PDI promedio fue de 87,4% ($p=2e^{-16}$), mientras que la tasa de pérdida en el PDI estimado con el modelo fue de 0,56% por cada aumento de 1 °C en la temperatura por encima de la temperatura de quiebre ($p=2,81e^{-6}$). Estos resultados sugieren la necesidad de evaluar con mayor precisión el efecto sobre el PDI en un rango de temperaturas más acotado incluso evaluando temperaturas entre 55 y 85 °C para tener más seguridad respecto del límite de temperatura que aseguraría un adecuado secado, bajo condiciones controladas, sin alterar las propiedades funcionales de las proteínas.

$$PDI (\%) = A + p \times ((T - T_C) > 0) \times (T - T_C)$$

Ecuación 24

Donde: T_C es la temperatura crítica en la que se produce el quiebre en la tendencia, A es el nivel medio de PDI (%) antes de la T_C , y p es la pérdida en el PDI (%) por °C de aumento en la temperatura a partir de T_C

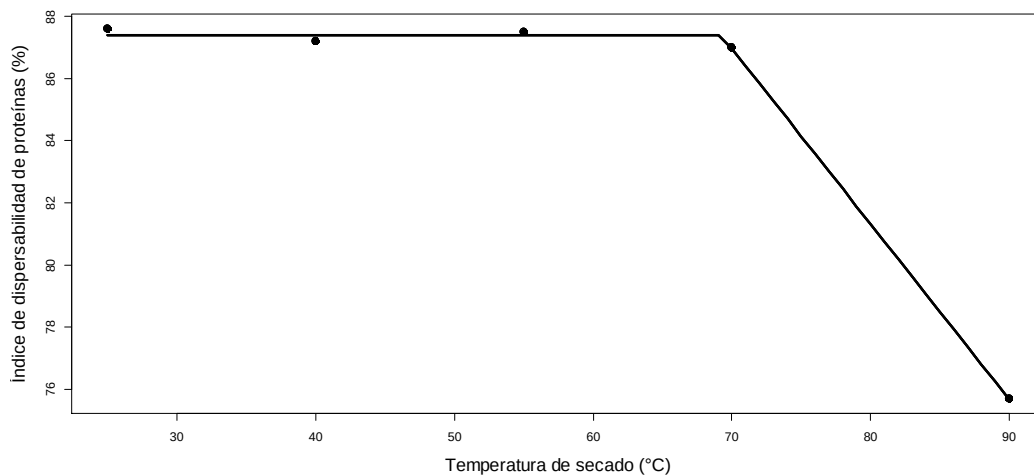


Figura 39. Efecto de la temperatura del aire de secado a escala laboratorio en el índice de dispersabilidad de proteína (PDI) del poroto de soja

En el Anexo XV se muestran los valores de PDI obtenidos para cada uno de los tratamientos de secado evaluados en condiciones controladas (en escala laboratorio).

7.4.2.4. Tratamiento de secado a escala real

La composición de poroto original y luego del tratamiento de secado al que fue sometido cada lote de poroto de soja se muestra en la Tabla 31. La composición final del poroto presentó una composición similar a la presentada en otros ensayos desarrollados en el Capítulo I. Se puede apreciar que el secado en una secadora comercial a escala real rindió humedades finales relativamente homogéneas y cercanas a la humedad final deseada en ambos tratamientos (80 y 115 °C). A su vez, la composición del poroto fue similar para ambos tratamientos evaluados. Por otra parte, la temperatura alcanzada por el poroto de soja dentro de la cámara de secado fue de 52 °C cuando la temperatura del aire de secado fue de 80 °C, y de 57 °C cuando la temperatura del aire de secado fue de 115 °C.

Tabla 31. Composición del poroto de soja por medio de NIRS antes y después de ser sometido a diferentes tratamientos de secado

Muestra	Temperatura de secado aire/grano	Rep	CHp (% b.s.)	CPp (% b.s.)	CAP (% b.s.)
Poroto húmedo			16,1 ± 0,16	35,5 ± 0,47	20,5 ± 0,06
Poroto seco	80/52 °C	1	10,8 ± 0,07	38,2 ± 0,47	18,6 ± 0,32
		2	10,4 ± 0,29	38,6 ± 0,40	18,4 ± 0,39
		3	9,8 ± 0,25	38,0 ± 0,34	18,7 ± 0,45
		Todas	10,3 ± 0,47 ^a	38,3 ± 0,43 ^a	18,6 ± 0,37 ^a
Poroto húmedo			16,9 ± 0,41	37,2 ± 0,18	20,4 ± 0,16
Poroto seco	115/57 °C	1	10,2 ± 0,32	38,2 ± 0,44	20,5 ± 0,06
		2	9,5 ± 0,38	37,8 ± 0,37	20,7 ± 0,29
		3	9,3 ± 0,74	37,9 ± 0,56	20,8 ± 0,26
		Todas	9,7 ± 0,62 ^b	37,9 ± 0,44 ^a	20,7 ± 0,24 ^b

Nota: CHp es contenido de humedad, CPp es contenido de proteína y CAP es contenido de aceite del poroto de soja. Se muestran los valores promedios seguido de ± el desvío estándar. Letras iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición de poroto para los tratamientos térmicos realizados a diferentes temperaturas (p<0,05)

En la Tabla 32 se puede apreciar la composición del expeller de soja obtenido a partir del poroto sometido a los dos tratamientos de secado. Las diferencias encontradas en el contenido de aceite residual (3,9 puntos porcentuales más de aceite en el lote secado a 80 °C) se debieron a problemas con la prensa durante el procesamiento del lote secado a menor temperatura (teniendo una

baja eficiencia de extracción) que fue evidenciado luego del análisis composicional.

La solubilidad proteica en KOH fue en promedio de 78,3% para el tratamiento a 80 °C y de 66,4% a 115 °C. Este último valor indica un proceso más avanzado de agregación vía Maillard (agregados con uniones covalentes), en el cual la lisina interviene en reacciones de glicosilación. Como ya se mencionó, fue informado por otros autores (Ingrassia *et al.*, 2017) que una disminución de la solubilidad proteica en KOH por debajo de 65% (Araba y Dale, 1990a) indica un sobre calentamiento que genera pérdida de lisina disponible (pierde su capacidad de ser digerida). Resultados similares se obtuvieron para las muestras analizadas en el Capítulo I.

Tabla 32. Composición y calidad del expeller de soja analizadas por NIRS obtenido a partir del poroto de soja sometido a los diferentes tratamientos de secado a escala real

Muestra	Temperatura del aire de secado (°C)	Rep	CHe (% b.s.)	CPe (% b.s.)	CAe (% b.s.)	Sol. en KOH (%)
Expeller de soja	80	1	5,5 ± 0,17	40,5 ± 0,29	11,2 ± 0,09	83,3 ± 0,38
		2	4,3 ± 0,03	40,6 ± 0,13	11,1 ± 0,13	76,2 ± 0,52
		3	4,1 ± 0,13	40,3 ± 0,23	11,1 ± 0,10	75,4 ± 0,85
		Todas	4,6 ± 0,66 ^a	40,5 ± 0,25 ^a	11,1 ± 0,12 ^a	78,3 ± 3,79 ^a
	115	1	4,9 ± 0,15	42,5 ± 0,40	8,5 ± 0,08	73,3 ± 0,41
		2	3,9 ± 0,08	42,1 ± 0,15	6,7 ± 0,03	65,6 ± 0,97
		3	3,6 ± 0,02	39,6 ± 0,11	6,6 ± 0,04	60,2 ± 1,17
		Todas	4,1 ± 0,60 ^a	41,4 ± 1,38 ^a	7,2 ± 0,92 ^b	66,3 ± 5,75 ^b

Nota: Rep es repeticiones, CHe es contenido de humedad, CPe es contenido de proteína y CAe es contenido de aceite del expeller de soja, y Sol. en KOH es la solubilidad de la proteína en hidróxido de potasio. Se muestran los valores promedios de tres repeticiones seguido de ± el desvío estándar. Letras iguales no son significativamente diferentes cuando se compara la composición del expeller para los tratamientos térmicos realizados a diferentes temperaturas (p<0,05)

En esta sección, como se explicó en la metodología, se buscaba estudiar el efecto de dos tratamientos de secado diferentes (80 y 115 °C) sobre el PDI del poroto seco y del expeller de soja resultante. De esta manera se analizó el PDI en la muestra original (poroto sin secar, denominado Proceso 0), en el poroto seco (Proceso 1) y en el expeller obtenido (Proceso 2) en cada caso. Sin embargo, el material original utilizado para los tratamiento térmicos de 80 °C y

115 °C fue diferente (lotes de soja de diferente origen) por lo que el PDI del Proceso 0 de ambos lotes resultó sustancialmente diferente (83,7 y 73,2 para el tratamiento de secado a 80 y 115 °C, respectivamente) (Tabla 33). Motivo de ello el efecto del proceso de secado se tuvo que analizar de manera separada. Los valores de PDI diferenciales en las muestras originales son atribuidos a efectos de fenotipo de la materia prima y no a los tratamientos.

La Tabla 33 muestra que el proceso de secado (Proceso 1), en las condiciones realizadas no afectó sustancialmente la dispersabilidad de las proteínas en el poroto (entre 0,8 y 2,1 puntos porcentuales de disminución para los tratamientos de 80 y 115 °C, respectivamente). Sin embargo, el Proceso 2 fue el que mayor efecto presentó sobre el PDI y la solubilidad en KOH obteniendo una importante reducción en ambos parámetros (la disminución en PDI fue de 48,2 y 55,1 puntos porcentuales para los tratamientos de 80 y 115 °C, respectivamente).

El tratamiento térmico al que se somete la muestra luego del proceso de E-P no puede ser considerado como el único factor incidente del proceso. De manera adicional, las diferencias en el proceso de prensado traducidas en diferentes contenidos de aceite residual en el expeller podrían haber causado las mayores diferencias encontradas tanto en el PDI como en la solubilidad proteica en KOH para ambos tratamientos térmicos. Por estos motivos el efecto del proceso de secado se tuvo que analizar de manera separada, sin realizar comparaciones entre 80 y 115°C. En ambos casos (PDI y solubilidad en KOH) las diferenciales encontradas en las muestras iniciales (sin secar) podrían ser atribuidas en parte a la heterogeneidad de los lotes sometidos a los tratamientos de secado (efecto de fenotipo de la materia prima) y a un efecto del contenido de aceite residual del expeller (secado a 80 °C), y no sólo a los tratamientos de secado realizados.

Tabla 33. Efecto de las diferentes etapas de procesamiento en el índice de dispersabilidad de las proteínas para los dos tratamientos térmicos evaluados

Muestra	Procesamiento	Temperatura del aire de secado (°C)	Rep	PDI (%)	PDI promedio (%) ± SD
Poroto húmedo	Proceso 0	80	1	85,7	83,7 ± 1,81 ^a
			2	83,2	
			3	82,1	
Poroto seco	Proceso 1		1	82,2	82,9 ± 2,06 ^a
			2	81,3	
			3	85,2	
Expeller	Proceso 2		1	45,7	34,7 ± 9,55 ^b
			2	29,5	
			3	28,9	
Poroto húmedo	Proceso 0	115	1	72,9	73,2 ± 0,70 ^a
			2	72,8	
			3	74,0	
Poroto seco	Proceso 1		1	70,9	71,1 ± 0,19 ^a
			2	71,2	
			3	71,2	
Expeller	Proceso 2		1	22,2	16,0 ± 5,46 ^b
			2	12,6	
			3	13,1	

Nota: CH es contenido de humedad y PDI es el índice de dispersabilidad de proteína. El proceso 0 indica que la muestra de poroto se encuentra en estado original, el proceso 1 indica que el poroto de soja fue sometido al tratamiento de secado y el proceso 2 indica que el poroto fue sometido al tratamiento de E-P para la obtención de expeller. Letras de significancia iguales indican que no hay diferencias significativas en las medias ($p < 0,05$) dentro de un mismo tratamiento de secado

7.5. DISCUSIÓN

7.5.1. Caracterización de las propiedades estructurales de las proteínas

7.5.1.1. Grado de desnaturalización proteica por calorimetría diferencial de barrido modulada

En las Tablas 26 y 27 se mostraron las entalpías parciales y totales de desnaturalización térmica del poroto y expeller dispersos en NaCl y agua, respectivamente. En todos los casos se puede observar que cuando aparece el pico 1 (pico correspondiente a KTI, a la fracción más importante de la ureasa y a la fracción más termolábil del BBTI) en poroto, en expeller se reduce considerablemente o desaparece producto de la inactivación por calor. El pico 2 (correspondiente a las proteínas de reserva 7S y a la ureasa) mostró un comportamiento similar aunque en pocas muestras desaparece. Finalmente el pico 3 (correspondiente a las proteínas de reserva 11S, a la lectina y a la fracción más termoestable de BBTI) es el que sufrió las menores reducciones como consecuencia del tratamiento térmico en las muestras de expeller respecto de las de poroto de soja. En tal sentido, Sobral *et al.* (2012) evaluaron el efecto de las distintas etapas involucradas en el proceso de extracción con solvente (harina desgrasada, desolventizada y tostada) en termogramas de MDSC y obtuvieron un resultado similar, aunque en este caso los diferentes procesos térmicos involucrados no fueron severos como lo es el proceso de E-P. De esta manera, sólo detectaron reducciones paulatinas luego de cada proceso al que fue sometido el producto. Sessa (1992) demostró que el KTI se desnaturaliza a una temperatura inferior a las fracciones 7S y 11S cuando la humedad es elevada (alrededor de 20% b.h.). Por esta razón, dependiendo de cuales sean las condiciones de temperatura y presión de vapor generadas en el producto, es posible lograr una adecuada inactivación, sin provocar un daño en las proteínas de reserva, responsables de las propiedades funcionales más relevantes.

El proceso de E-P involucra un tratamiento térmico intenso (alcanzando temperaturas entre 100 y 165 °C, como se mencionó en el Capítulo I) que se lleva a cabo durante un tiempo corto (unos pocos segundos) lo que permite

inactivar los factores antinutricionales presentes en el poroto de soja por un lado, y pudiendo generar sólo desnaturalización parcial, pero no total, de las proteínas de reserva 7S y 11S. Si el tratamiento se realiza a temperaturas superiores o durante un período de tiempo prolongado es factible encontrar daños en las proteínas de reserva. En consecuencia, el daño que pueda provocar el proceso de E-P va a depender de las condiciones en que se lleva a cabo. Los termogramas obtenidos para los pares de muestras de poroto y expeller (Figura 34) nos permiten apreciar las diferencias entre las muestras tratadas térmicamente (mediante el proceso de E-P del poroto de soja) respecto de las muestras sin tratar (poroto de soja) que se mencionaron anteriormente.

7.5.1.2. Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier

Existen numerosos trabajos que demuestran la capacidad del FTIR como técnica para poder detectar cambios estructurales en las proteínas (Byler *et al.*, 1986; Singh, 2000). Sin embargo, particularmente para proteínas de soja, existe un número limitado de trabajos en los que se utiliza esta técnica. Sobral *et al.* (2012), por ejemplo, analizaron mediante FTIR proteína de soja en poroto y harinas desgrasadas obtenidas por dos procesos diferentes, con la finalidad de evaluar la detección de cambios en los espectros a causa de cambios en la composición del producto obtenido. En particular encontraron que el pico correspondiente a los lípidos desapareció casi completamente, debido a que en harinas sólo quedan lípidos residuales. Además detectaron algunos cambios en las amidas I y III.

El proceso de E-P, como se mencionó en la sección 1.5.2. de la introducción, somete al producto a una alta temperatura y a una alta presión que generan la ruptura de los oleosomas que contienen el aceite con la finalidad de facilitar su disponibilidad, seguido de una abrupta descompresión (Bargale *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 1987). Este tratamiento térmico y la aplicación de presión son responsables además de los diversos cambios que se producen en la estructura secundaria de las proteínas. En este sentido Tang y Ma (2009) mostraron que el tratamiento con altas presiones condujeron a un despliegue gradual de proteínas. Sin embargo, las proteínas desplegadas tendieron a

reconstruir sus estructuras secundarias y terciarias después de la descompresión. Esto podría sugerir que los cambios producidos por el tratamiento térmico son más relevantes que los que pudieran ocasionar la compresión y descompresión del material durante el proceso de extrusado. A su vez dependiendo de las condiciones en que se lleve a cabo el tratamiento térmico y las condiciones de la materia prima (humedad por ejemplo) se podría esperar que el tratamiento genere un efecto diferente. Ingrassia *et al.* (2017), encontraron reducciones en las intensidades de los picos para muestras de harina de soja tratadas térmicamente durante períodos de tiempo diferentes (60 °C durante 12, 24 y 48 horas). A medida que el tiempo de exposición al tratamiento térmico aumentó, las intensidades de los picos característicos de este producto se redujeron considerablemente. Finalmente, Yu (2011) demostró que el calentamiento seco y húmedo del poroto de soja afecta de manera diferente el perfil de nutrientes y la estructura molecular de las proteínas (relación de amidas), teniendo mayor sensibilidad al calentamiento húmedo.

Con la finalidad de evaluar los cambios estructurales en las proteínas se inspeccionó lo que ocurrió con las amidas I y III de acuerdo al rango de longitud de onda en que estas aparecen. En la Figura 36-A y 36-C se aprecia el efecto que el tratamiento térmico genera sobre la amida I en las muestras de expeller, respecto del poroto. Las mayores diferencias se observan en la muestra tratada a mayor temperatura (130 °C) logrando la reducción en la intensidad de los picos y eliminando algunos de ellos. En las Figuras 36-B y 36-D se muestra el mismo efecto en la amida III, evidenciado por una reducción sustancial en la intensidad de los picos.

Además del extrusado, la extracción de aceite finalmente ocurre durante el prensado. Dado que se han detectado grandes diferencias en la eficiencia de extracción en las diferentes plantas de E-P (Capítulo I), se decidió evaluar las diferencias entre muestras de expeller con diferentes contenidos de aceite residual. Esta diferencia podía ser captada en espectros FTIR dado que en otros trabajos la reducción del aceite era fácilmente visibilizada (Nzai y Proctor, 1998; Sobral *et al.*, 2012). Por esta razón se compararon en la Figura 37-A y 37-B dos muestras de expeller con contenidos de aceite contrastantes (E-024 y

E-014 con niveles de aceite de 6,2 y 15,3% (b.s.), respectivamente). Además del efecto del contenido de aceite residual se puede ver el cambio producido en las muestras de expeller respecto de la materia prima original (P-024 y P-014, respectivamente).

7.5.1.3. Cambios estructurales y de funcionalidad de las proteínas de soja luego del proceso de extrusado-prensado

Las muestras de expeller recolectadas de diferentes plantas de E-P indicaron una concordancia entre el nivel de tratamiento térmico sufrido y los cambios en indicadores de estructura y propiedades funcionales de las proteínas medidas a través de diferentes técnicas (actividad ureásica, solubilidad proteica en KOH, MDSC y FTIR). En líneas generales se pudo apreciar que las muestras que sufrieron tratamientos térmicos poco intensos (ej., muestra E-024) resultaron con un nivel de actividad ureásica alto (0,62 u pH), un nivel de solubilidad en KOH alto (78,0%) y escasa diferencia en los perfiles de MDSC (11,4% de desnaturalización) y FTIR entre la muestra de poroto y expeller. Por otra parte, las muestras que sufrieron tratamientos térmicos elevados en el proceso de E-P (ej. muestra E-017) resultaron con nula actividad ureásica (0,05 u pH), bajo nivel de solubilidad proteica en KOH (75,6%), y diferencias notables en los perfiles de MDSC (37,2% de desnaturalización) y FTIR entre la muestra de poroto y expeller de soja.

Las muestras de expeller E-015 y E-016 fueron procesadas bajo las mismas condiciones, en la misma planta de E-P, que la muestra E-017 (temperatura de extrusión de 168 °C). Estas muestras presentaron importantes diferencias en el grado de desnaturalización detectado en los termogramas de MDSC (34,2 y 60,2%, respectivamente). Además, la muestra E-015 que presentó una actividad ureásica mayor (0,15 u pH) que E-016 (0,03 u pH) que manifestó prácticamente una total inactivación de la ureasa, lo que se correspondió con el grado de desnaturalización más alto. Si consideramos otro factor además de la temperatura, como la humedad del poroto antes de ingresar al proceso de E-P (Anexo I), vemos que existe una relación entre esta y el efecto del tratamiento térmico aplicado. La humedad de las muestras P-015 y P-016 fue 14,9 y 11,5% (b.s.) lo cual demostró que un nivel de humedad mayor, aun cuando el

tratamiento térmico de extrusado es severo, genera una disminución en la efectividad para inactivar los factores antinutricionales, y por lo tanto, menor es el daño que genera por la desnaturalización de las proteínas.

En líneas generales, las plantas de E-P que producen expeller para consumo animal toman pocos recaudos respecto de las temperaturas de procesamiento, teniendo como única restricción la inactivación de factores antinutricionales. Sin embargo, se pudo evidenciar que algunas de las muestras analizadas mostraron grados de desnaturalización de proteínas (medida por MDSC en Tabla 26) y cambios a nivel de estructura secundaria (observados por FTIR en Figura 36), producto de las temperaturas de procesamiento excesivas, que evidenciarían una reducción en el valor nutricional de las mismas. Por otra parte, las plantas que procesan soja para alimentación humana requieren mayor nivel de cuidado respecto del tratamiento térmico de las proteínas debido al daño que estos causan sobre sus propiedades funcionales. Los estudios realizados en este capítulo confirman el efecto de la temperatura de procesamiento alcanzada dentro del extrusor y la humedad del poroto de soja en la estructura y funcionalidad de las proteínas. De esta manera se pone de manifiesto la relevancia del control de estas variables para obtener un producto con la calidad requerida de acuerdo a su uso final.

7.5.2. Efecto del tratamiento de secado sobre el índice de dispersabilidad de proteínas

Ninguno de los tratamientos térmicos de secado en condiciones reales (secadora escala real) generó una reducción significativa del PDI en las muestras de poroto de soja (2 puntos porcentuales como máximo) (Tabla 33). Con estos resultados se puede especular que el tratamiento térmico realizado a las muestras de poroto de soja durante el secado no fue lo suficientemente agresivo como para afectar de manera significativa la estructura secundaria de las proteínas y, por lo tanto, las propiedades funcionales asociadas a las mismas. Esto puede deberse a que si bien los tratamientos térmicos fueron realizados a temperaturas de aire elevadas (80 y 115 °C), la temperatura alcanzada por el grano fue de 52 °C para el tratamiento a 80 °C y de 57 °C para el tratamiento a 115 °C (con tiempos de exposición cercanos a las 4

horas), inferiores a los 70 °C identificados como temperatura de quiebre para la pérdida de PDI (Figura 39). La diferencia entre la temperatura del aire de secado y la temperatura que alcanza el grano durante el proceso está dada por las tasas diferenciales de transferencia de calor y humedad entre aire y grano y la duración del proceso de secado (tiempo de exposición a una determinada temperatura) (Brooker *et al.*, 1992). Las temperaturas del aire de secado evaluadas en el presente estudio son representativas de la forma de operación típica de las secadoras de granos en el sistema de poscosecha de Argentina (Abadia y Bartosik, 2013), lo cual implicaría que durante una operación de secado típica no sería esperable encontrar una disminución en el PDI de la soja.

El proceso de E-P genera diferentes cambios en la matriz del producto (partiendo de poroto hasta obtener expeller de soja). Los materiales proteicos sometidos a altas temperaturas, presión y fuerzas de cizallamiento se transforman en fluidos plásticos dentro del extrusor (Rueda *et al.*, 2004) que sufren un cambio a fibras insolubles luego del mismo. Además se sabe que la solubilidad de la proteína disminuye con un aumento en temperatura de extrusión (Bookwalter *et al.*, 1971; Mustakas *et al.*, 1964), razón por la cual es razonable encontrar una importante reducción en el PDI de las muestras luego del proceso de E-P como se mostró en la Tabla 33 (entre 48 y 55 puntos porcentuales).

Si bien se mencionó que el proceso de secado no tendría consecuencias negativas en el PDI (2 puntos porcentuales como máximo de reducción detectados), parecería que las muestras secadas a mayor temperatura quedan sensibilizadas, de modo que al ser sometidas ulteriormente al proceso E-P resultan en una reducción más pronunciada de su dispersabilidad (48 y 55 puntos porcentuales de disminución para los tratamientos de 80 y 115 °C, respectivamente) (Tabla 33).

Se sabe que si las proteínas de soja son parcialmente desnaturalizadas por calor, aumentan su hidrofobicidad superficial, lo cual le provee una mayor tendencia a la agregación frente a un proceso posterior (Nishinari *et al.*, 2014). Esto explicaría por qué al aumentar la temperatura de procesamiento (115 °C)

el PDI en poroto húmedo y seco no resultó muy diferente, pero la disminución del PDI luego del proceso E-P fue notablemente mayor. Este es un punto importante, ya que si se requiere mantener el PDI en el producto extrusado, sería conveniente limitar la temperatura de secado de la materia prima. En tal sentido parece razonable recomendar el uso de sistemas de secado en silo con aire natural o baja temperatura (de la Torre y Bartosik, 2013) para el secado del poroto de soja previo a su procesamiento en proteína de soja texturizada o micronizada. Con estos sistemas de secado no solo se garantiza evitar un tratamiento térmico que pudiera afectar la calidad de la proteína luego del extrusado, sino que también se minimiza la variabilidad de la humedad de los granos individuales, tal como se trató en el Capítulo II.

Sin embargo, no se puede asegurar que la menor temperatura de secado del poroto sea la única razón de la menor caída en el PDI en el expeller luego del proceso de extrusado para el tratamiento a 80 °C, ya que estas muestras sufrieron además un proceso de prensado diferente a las de 115 °C, resultando con 3,9 puntos porcentuales más de aceite. Un mayor contenido de aceite en el expeller podría aumentar la dispersabilidad de la proteína, causando una menor reducción en el PDI. Heywood *et al.* (2002) compararon el PDI para muestras de expeller con diferente nivel de aceite y observaron un incremento en la dispersabilidad de la proteína a medida que el contenido de aceite residual aumentó. Wu y Wang (2003) evaluaron la facilidad de extraer lípidos totales y polares de harinas obtenidas utilizando diferentes procesos donde encontraron que las muestras que fueron obtenidas por E-P presentaron los niveles más bajos de fosfolípidos en los lípidos totales extraídos. Esto se debe a que durante el proceso de E-P se favorece la interacción entre los diferentes componentes de la semilla generando un incremento en la fracción de fosfolípidos no extraíbles y obteniendo por lo tanto un mayor contenido de fosfolípidos en la harina obtenida. Entonces el hecho de que el expeller obtenido a 80 °C presentó un mayor nivel de aceite residual, generó que el expeller presente un mayor contenido de triglicéridos (mayoritario en la fracción lipídica) pero también hay un mayor contenido de fosfolípidos (las llamadas lecitinas de soja). Estos pueden contribuir a la dispersabilidad de las proteínas de soja, ya que forman complejos proteína-fosfolípidos que se encuentran muy

cargados (los fosfolípidos tienen carga dada por el grupo fosfato y la amina terminal), lo que favorece su dispersabilidad en agua (Erickson, 2008).

Además, como se mencionara anteriormente, el lote de soja que resultó en el tratamiento de secado a 80 °C tuvo 10,5 puntos porcentuales más de PDI inicial que el lote de soja sometido al tratamiento de 115 °C. Esto también podría implicar que el lote de soja sometido al tratamiento de secado a mayor temperatura tuvo mayor predisposición a perder capacidad de solubilización de las proteínas. En consecuencia, para poder concluir que el tratamiento de secado a escala real puede afectar el PDI del producto extrusado habría que realizar experimentos adicionales, utilizando un único lote de soja y garantizar el funcionamiento igualitario del proceso de E-P, condiciones más adecuadas para un ensayo a escala planta piloto que a escala real.

Es importante aclarar que los tratamientos de secado realizados a escala real estuvieron afectados por condiciones ambientales particulares (temperatura y HR, lluvia, viento, etc.). Replicar este ensayo en otras condiciones ambientales podría resultar en tratamientos térmicos diferentes y, por lo tanto, ciertas diferencias podrían también observarse en el PDI.

7.6. CONCLUSIONES PARCIALES

Los estudios realizados por calorimetría diferencial de barrido modulada demostraron una progresiva desnaturalización de las proteínas más termolábiles luego del proceso de extrusado-prensado. La mayor contribución a la disminución de la entalpía total, en la mayoría de los expellers, fue la desnaturalización total del factor antitriptico de Kunitz. Además, se observó desnaturalización de las proteínas de reserva.

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier permitió detectar cambios de composición luego del proceso de extrusado-prensado. Además permitió detectar cambios estructurales en las proteínas de soja que ocurren durante la inactivación térmica del expeller de soja.

Los tratamientos térmicos realizados a escala laboratorio sólo presentaron un efecto en la funcionalidad de las proteínas de soja a temperaturas del aire de secado por encima de 69,2 °C. Sin embargo es necesario evaluar temperaturas intermedias a las que se evaluaron.

Los tratamientos térmicos realizados a escala real (a las temperaturas del aire de secado que se evaluaron) no presentaron un importante efecto en la dispersabilidad proteica en agua, mientras que el proceso de extrusado-prensado presentó un efecto significativo en la misma.

La hipótesis 3 “Las condiciones de secado del poroto de soja pueden provocar alteraciones como desnaturalización y agregación de las proteínas de soja y por lo tanto afectar sus propiedades funcionales” es parcialmente rechazada. Si bien se pudo comprobar el efecto que tiene la temperatura del aire de secado por encima de los 70 °C a escala laboratorio (asumiendo que la temperatura del aire y del grano son similares) sobre la funcionalidad de las proteínas, a escala real la temperatura del grano no alcanzó los valores que podrían evidenciar este efecto, aunque podría haber causado una sensibilización de las proteínas.

8. CONCLUSIONES GENERALES

Mediante muestreos de campo se logró caracterizar física, química y microbiológicamente el expeller de soja obtenido de plantas de extrusado-prensado localizadas en las principales zonas productivas de soja en Argentina. Se encontró una importante variabilidad tanto en la materia prima como en el producto extrusado, pudiéndose identificar como la principal causa de variabilidad composicional en el expeller la humedad con la que el poroto de soja ingresa a la extrusora. Otra fuente de variación detectada fueron las condiciones en que se lleva a cabo el proceso de extracción de aceite por extrusado-prensado.

El efecto del secado sobre la eficiencia de extracción, composición y calidad del expeller se estudió a través de una serie de experimentos realizados a escala real. Se pudo concluir que la disminución de la humedad en el poroto de soja afecta las propiedades viscoelásticas del mismo, aumenta la fricción durante el proceso de extrusado, favorece la ruptura de los oleosomas que contienen el aceite, y mejora, por ende, la eficiencia de extracción de aceite. Además, el aumento de la fricción resulta en un aumento de presión y temperatura durante el extrusado, lo cual contribuye a la inactivación de los factores antinutricionales presentes en la materia prima.

En función de lo investigado se recomienda procesar el poroto de soja a una humedad de alrededor de 9 - 10% b.s. Esta humedad permite una alta eficiencia de extracción de aceite y es compatible con el resultado económico del proceso (secar el poroto de soja a humedades inferiores resulta excesivamente costoso). Por otra parte, abastecer el extrusor con poroto de soja con humedad uniforme permite obtener expeller con composición uniforme.

Los estudios de almacenabilidad del expeller se llevaron a cabo a través de una serie de experimentos de laboratorio y a escala piloto. Se comenzó estudiando en el laboratorio las isotermas de sorción del expeller, y se determinó que el modelo de Halsey Mejorado fue el que mejor ajuste mostró para las relaciones de contenido de humedad de equilibrio/humedad relativa de equilibrio del expeller de soja. En función de esto se pudo determinar que la humedad de almacenamiento segura del expeller de soja (humedad relativa de

equilibrio de 67%) es de 12,4% (b.s.) para una temperatura de 20 °C y un contenido de aceite residual de 7% (b.s.). Bajo esta condición de almacenamiento se restringe la actividad microbiológica en el producto, por lo que se prolonga el tiempo de almacenamiento. También se pudo establecer que la humedad de almacenamiento segura es afectada tanto por la temperatura (disminuye con el aumento de la temperatura) como por el contenido de aceite residual del expeller (disminuye con el aumento del aceite residual).

Posteriormente se realizaron experimentos de almacenamiento bajo diferentes tipos de atmósferas (convencional y hermética) a escala piloto. Los resultados indicaron que cuando se almacena expeller a una humedad por debajo de 12% (b.s.), independientemente del sistema de almacenamiento utilizado (hermético o convencional), se mantiene la calidad del producto incluso durante 6 meses de almacenamiento. Por su parte, a humedades superiores a 12% (b.s.) los sistemas herméticos resultaron con un menor desarrollo de hongos y menor deterioro del aceite (menor acidez), prolongando en definitiva el tiempo de almacenamiento seguro del expeller respecto del almacenamiento convencional.

Se pudo establecer que el agregado de gomas en el expeller de soja no afecta “*per se*” la almacenabilidad del producto. Sin embargo debido a que las gomas son incorporadas al expeller diluidas en agua, esta práctica resulta en el incremento del contenido de humedad del subproducto. En función de ello se concluye que es seguro agregar gomas al expeller en tanto y cuando el nivel de humedad final no sobrepase la humedad de almacenamiento segura de 12% (b.s.).

En los estudios de secado a escala laboratorio se encontraron evidencias de que los tratamientos térmicos comenzaron a afectar la funcionalidad de las proteínas de soja cuando la temperatura del aire de secado supera los 69,2 °C. Sin embargo, para encontrar con mayor precisión el límite de temperatura a partir del cual se afectan las propiedades funcionales de las proteínas de soja, sería necesario repetir el estudio en intervalos de temperatura más estrechos (5 °C).

Los ensayos a escala real con temperaturas del aire de 80 y 115 °C y tiempos de exposición de 4:40 y 4:00 hs no causaron una reducción sustancial en la funcionalidad de las proteínas del poroto de soja. Sin embargo, el ulterior proceso de extrusado resultó en alteraciones en las proteínas del expeller, como agregación y desnaturalización de las fracciones más termolábiles, con la consecuente reducción en su funcionalidad. Además se pudo observar que a la mayor temperatura del aire de secado evaluada (115 °C), la disminución del índice de dispersabilidad de la proteína causada por el proceso de extrusado fue mayor que a la menor temperatura de secado evaluada (80 °C). Esto podría indicar un posible efecto de sensibilización de la proteína como resultado del tratamiento de secado más intenso.

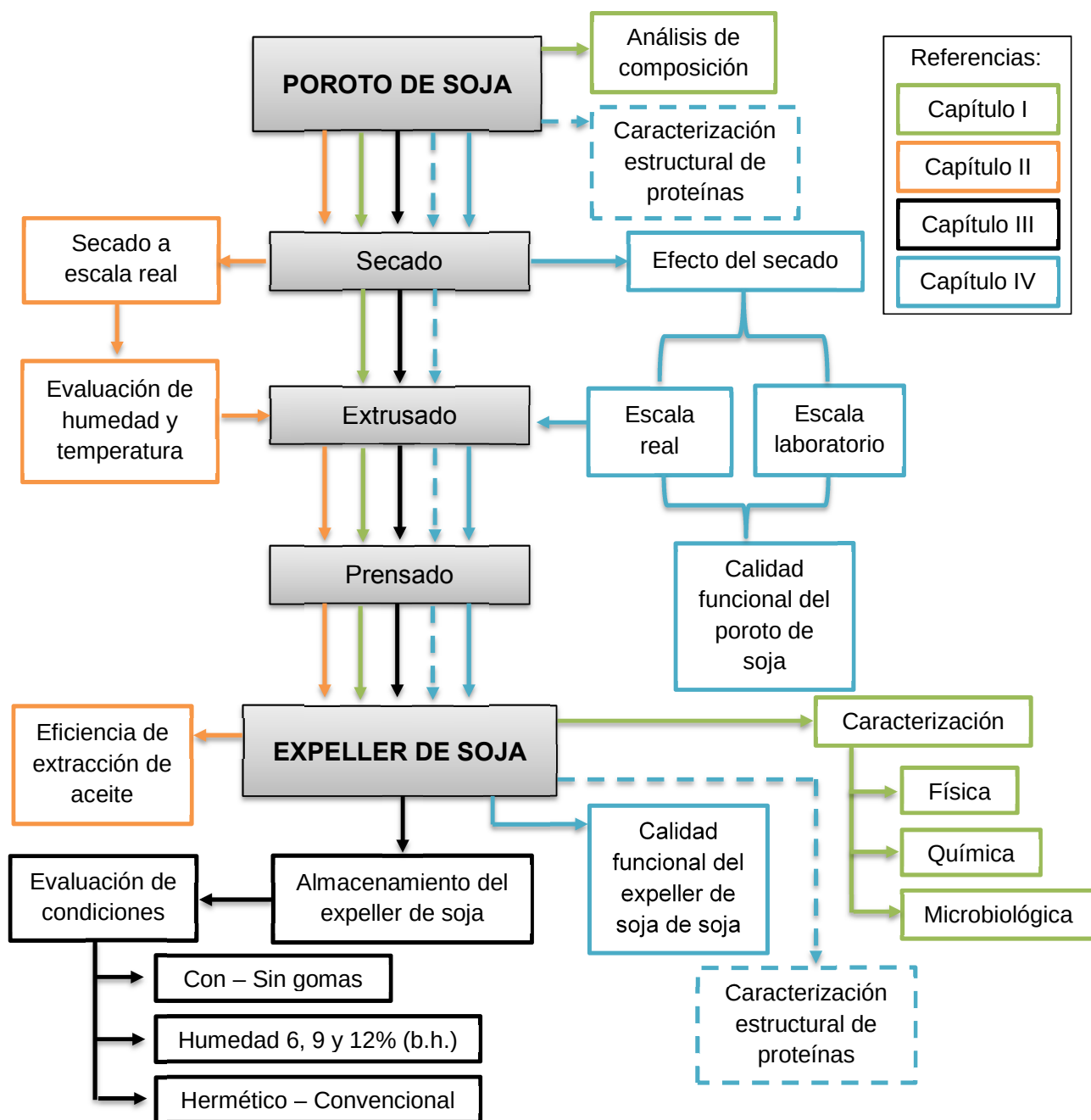


Figura 40. Diagrama conceptual para la integración del trabajo desarrollado en los cuatro capítulos de la tesis

9. APORTES E IMPLICANCIAS PRÁCTICAS

Desde el punto de vista práctico esta tesis hace un importante aporte al Sistema Agroalimentario Argentino. Se confirmaron los valores composicionales típicos del expeller de soja y su probable rango de variación. Se logró determinar que la principal fuente de variación composicional del expeller es la variabilidad en el contenido de humedad del poroto procesado. Se estableció que la humedad óptima de procesamiento a los efectos de maximizar la eficiencia de extracción e inactivar los factores antinutricionales está entre 9 y 10% (b.s.). Esta información le permite a los procesadores ajustar sus protocolos de trabajo para efficientizar el proceso y lograr un producto (expeller) de mejor calidad y menor variabilidad composicional.

Se estableció que la humedad de almacenamiento segura del expeller es de 12% (b.s.), se aportó al conocimiento de la evolución de la calidad durante el almacenamiento convencional y hermético, y se puso de manifiesto las ventajas del almacenamiento hermético cuando la humedad del expeller supera la condición de almacenamiento segura. Esta información permite establecer estrategias de almacenamiento seguras del subproducto en el mediano y largo plazo, tanto a los procesadores como a los usuarios de este subproducto.

Desde el punto de vista del secado se pudo establecer que si la temperatura del poroto alcanza los 69,2 °C comenzaría a afectarse las propiedades funcionales de las proteínas, lo cual constituye un parámetro de regulación de las secadoras. Esta información es de gran utilidad para las industrias alimenticias que desean preservar las propiedades funcionales de la soja.

Por los motivos expuestos, la presente tesis no solo aporta con información original al área de conocimiento, sino que también tiene importantes derivaciones prácticas que benefician al Sistema Agro Alimentario Argentino y a las plantas de extrusado-prensado de Argentina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadia, B.; Bartosik, R. 2013. *Manual de Buenas Prácticas en Poscosecha de Granos: hacia el agregado de valor en origen de la producción primaria*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. 194 p. ISBN 978-987-679-264-6.
- Aguilera, J. M.; Kosikowski, F.V. 1976. Soybean extruded product: a response surface analysis. *J. Food Sci.* 41: 647–651.
- Akaike, H. 1974. A new Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Transactionson Automatic Control*. 19(6): 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- Alvarez, E.; Cardoso, M.; Depetris, G.; Castellari, C.; Cristos, D.; Montiel, M. D.; Bartosik, R. 2019. Storage of WDGS under hermetic and non-hermetic conditions: effect on sensory properties, microorganisms, mycotoxins and nutritional value. *J. Stored Prod. Res.* 80: 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.11.011>.
- Anderson, R.L. 1992. Effects of steaming on soybean proteins and trypsin inhibitors. *JAOCS*. 69(12): 1170–1176. <https://doi.org/10.1007/BF02637675>.
- AOAC Official Method 984.13. 1997. Kjeldahl method modified by Arnold-Gunning. Association of Official Agricultural Chemists.
- AOCS Official Method Ba 10a-05. 1993. Protein Dispersibility Index. *American Oil of Chemists Society*.
- AOCS Official Method Ca 5a-40. 1997. Free fatty acids. *American Oil of Chemists Society*.
- Araba, M.; Dale, N.M. 1990a. Evaluation of Protein Solubility as an Indicator of Overprocessing Soybean Meal. *Poultry Sci.* 69(1): 76–83.
- Araba, M.; Dale, N.M. 1990b. Evaluation of Protein Solubility as an Indicator of Underprocessing Soybean Meal. *Poultry Sci.* 69(10): 1749–1752.
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo IX: Alimentos farináceos - cereales, harinas y derivados. 115 p.
- ASAE Standards D245.5, 2007. *Moisture Relationships of Plant - Based Agricultural Products*. ASAE, St. Joseph, Michigan, USA.
- ASAE Standards S352.2. 2003. *Moisture Measurement - Unground Grain and Seeds*. ASAE. St. Joseph, Michigan, USA.
- Asbridge, D.D. 1995. Chapter 1: Soybeans vs. other vegetable oils as a source of edible oil products. Erickson, D.R. (Ed.) En: *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. AOCS PRESS. Urbana, IL. pp. 1–8. ISBN 9780935315639. <https://doi.org/10.1016/B978-0-935315-63-9.50005-X>.
- Azcona, J.; Bartosik, R.; Cardoso, L.; Casini, C.; Curetot, A.; Desimone, M.; Valdéz, D. 2009. *Almacenamiento de granos en bolsas plásticas: resultados de investigación*. Ediciones

- INTA. MANfredi, Córdoba, Argentina. 201 p. ISSN 1667-9199.
- Badui Dergal, S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. México. 736 p. ISBN: 970-26-0670-5.
- Bargale, P.C.; Ford, R.J.; Sosulski, F.W.; Wulfsohn, D.; Irudayaraj, J. 1999. Mechanical oil expression from extruded soybean samples. *JAOCs*. 76(2): 223–229.
- Barros, G.G.; Oviedo, M.S.; Ramirez, M.L.; Chulze, S.N. 2010. Safety aspect in soybean food and feed chains: fungal and mycotoxins contamination. En *Soybeans: chemistry, technology, and utilization soybeans*. pp. 7–20.
- Bartosik, R. 2012. An inside look at the silo-bag system. En: Navarro, S.; Banks, H.J.; Jayas, D.S.; Bell, C.H.; Noyes, R.T.; Ferizli, A.G.; Alagusundaram, K. (Eds.) *Proceedings of the 9th International Conference Controlled Atmospheres and Fumigation of Stored Products*. CAF. Antalya, Turkey. pp. 117–128.
- Bartosik, R.; Abadia, B.; Cardoso, L.; de la Torre, D.; Maciel, G. 2017. Capítulo XII: Almacenamiento y acondicionamiento de trigo. En *Manual del Cultivo del Trigo*. 1a ed. International Plant Nutrition Institute. 224 p. ISBN 978-987-46277-3-5 .
- Bartosik, R.E. 2003. Implementation and evaluation of a new variable heat fan and burner in-bin drying control strategy. *M.S. Thesis*. West Lafayette, Indiana: Purdue University, Department of Agricultural and Biological Engineering. pp. 72-83.
- Bartosik, R.E., Maier, D.E. 2007. Study of adsorption and desorption equilibrium relationship for yellow dent, white, and waxy corn types using the Modified Chung-Pfost equation. *Trans. ASABE*. 50(5): 1741–1749.
- Bartosik, R.; Rodríguez, J.; & Cardoso, L. 2008. Storage of corn wheat soybean and sunflower in hermetic. En *2008 International Grain Quality & Technology Congress Proceedings*. Chicago, Illinois, USA. p. 0-13.
- Bartosik, R.; Rodríguez, J.; de la Torre, D.; Piñeiro, D. 2009. Distribución del aire, variabilidad de humedad del grano y volumen de expansión de maíz pisingallo. En *Anales del X Congreso Argentino de Ingeniería Rural y II del Mercosur*. CADIR. 8 pp.
- Baryeh, E.A.; Mangope, B.K. 2003. Some physical properties of QP-38 variety pigeon pea. *J. Food Eng.* 56(1): 59–65. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00148-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00148-6).
- Bern, C.J.; Rukunudin, I.H.; Zagrabenye, D.O.; Cogdill, R.P. 1998. Deterioration of soybeans during storage. En *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection*. p. 1632–1641.
- Bern, C.J.; Steele, J.L.; Morey, R.V. 2002. Shelled Corn CO₂ Evolution and Storage Time for 0.5% Dry Matter Loss. *Appl. Eng. Agric.* 18(6): 703–706. <https://doi.org/10.13031/2013.11325>.
- Bhattacharya, K.; Raha, S. 2002. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. *Mycopathologia*. 155(3): 135–141.

<https://doi.org/10.1023/A:1020475411125>.

- Bhattacharya, M.; Hanna, M.A.; Kaufman, R.E. 1986. Textural properties of extruded plant protein blends. *J. Food Sci.* 51(4): 988–993. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb11215.x>.
- Biopack. 2019. Ficha técnica del n-Hexano p.a. Retrieved from https://www.biopack.com.ar/ficha_376_n-hexano-p-a.
- Bookwalter, G.N.; Mustakas, G.C.; Kwolek, W.F.; Mc Ghee, J.E.; Albrecht, W.J. 1971. Full-fat soy flour extrusion cooked: properties and food uses. *J. Food Sci.* 36: 5–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1971.tb02019.x>
- Bragachini, M., Ustarroz, F., Saavedra, A. E., Méndez, J. M., Mathier, D., Bragachini, M., Hennung, H. 2017. *Evolución del sistema productivo Agropecuario Argentino*. Ediciones INTA. Manfredi, Córdoba, Argentina. 124 p.
- Brooker, D.B.; Bakker-Arkema, F.W.; Hall, W. 1992. Drying and storage of grains and oilseeds. *Van Nostrand Reinhold, New York*. 450 p.
- Bullerman, L.B.; Bianchini, A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. *Int. J. Food Microbiol.* 119: 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.035>
- Byler, D.M.; Susi, H.; Regional, E. 1986. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra. *Biopolymers*. 25: 469–487.
- Cardoso, L.; Ochandio, D.; Massigoge, J.; Izquierdo, N.; González Belo, R.; Bartosik, R. 2014. Almacenaje de girasol con diferentes contenidos de humedad en silo bolsa. En: Gastón, A. Abalone, R.; Bartosik, R. (Eds.). *Memorias del Primer Congreso Internacional de Almacenamiento de Granos en Silo Bolsa*. Ediciones INTA. Mar del plata - Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 16 p. ISBN 978-987-3662-06-5.
- Cardoso, L.; Bartosik, R.; Campabadal, C.; de la Torre, D. 2012. Air-tightness level in hermetic plastic bags (silo-bags) for different storage conditions. En: *Proc 9th. Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*. 583–589. Retrieved from [http://ftic.co.il/2012AntalyaPDF/SESSION 06 PAPER 04.pdf](http://ftic.co.il/2012AntalyaPDF/SESSION%2006%20PAPER%2004.pdf).
- Cardoso, M.L.; Bartosik, R.E.; Rodríguez, J.C. 2007. Estudio de la evolución de la humedad de los granos individuales en silo-bolsa de maíz y soja. En: *X Congreso Argentino de Ingeniería Rural y II del MERCOSUR 1*. 22 p.
- Castellano, A.; Goizueta, M.E. 2011. Agregado de valor en la cadena de la soja: alternativa de upgrading para productores primarios. En: *3er Congreso Regional de Economía Agraria XVI Congreso de Economistas Agrarios de Chile VLI Reunión Anual de la Asociación Argentina de Economía Agraria*. 21 p.
- Castellari, C.C.; Cendoya, M.G.; Marcos Valle, F.J.; Barrera, V.; Pacin, A.M. 2015. Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de maíz (*Zea mays L.*) almacenados en silos bolsa en Argentina. *Revista Argentina de*

- Microbiología*. 47(4): 350–359. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.003>.
- Cazzaniga, D.; Basílico, J.C.; González, R.J.; Torres, R.L.; De Greef, D.M. 2001. Mycotoxins inactivation by extrusion cooking of corn flour. *Lett. Appl. Microbiol.* 33(2): 144–147. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2001.00968.x>.
- Chen, C. 2000. Factors which effect equilibrium relative humidity of agricultural products. *Trans. ASAE*. 43(3): 673–683. <https://doi.org/10.13031/2013.2749>.
- Chen, C.; Morey, R.V. 1989. Comparison of four EMC/ERH equations. *Trans. ASAE*. 32(3): 983-990. <https://doi.org/10.13031/2013.31103>.
- Chen, F.L.; Wei, Y.M.; Zhang, B.; Ojokoh, A.O. 2010. System parameters and product properties response of soybean protein extruded at wide moisture range. *J. Food Eng.* 96(2): 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.014>.
- Chen, J.; Chen, Z. 2008. Extended Bayesian information criteria for model selection with large model spaces. *Biometrika*. 95(3): 759–771. <https://doi.org/10.1093/biomet/asn034>.
- Crowe, T.W.; Johnson, L.A.; Wang, T. 2001. Characterization of extruded-expelled soybean flours. *JAOCS*. 78(8): 775–779.
- Cuniberti, M.; Herrero, R. 2018. Problemática de la baja proteína de la soja. INTA. Manfredi, Córdoba, Argentina. 24 p.
- de la Torre, D.; Bartosik, R. 2013. Climate effect on strategy selection and energy consumption for in-bin drying of corn with natural air/low temperature. *Agric.Eng. Int. CIGR J.* 15(2): 304–316.
- de la Torre, D.; Bartosik, R.; Rodríguez, J. 2011. Drying popcorn with a natural air/low temperature in-bin drying system. En: *Proceedings of the XXXIV CIOSTA and CIGR V Conference*. 7 p.
- Dutta, S. K.; Nema, V.K.; Bhardwaj, R.K. 1988. Physical properties of gram. *J. Agric. Eng. Res.* 39(4): 259–268. [https://doi.org/10.1016/0021-8634\(88\)90147-3](https://doi.org/10.1016/0021-8634(88)90147-3).
- El-Shemy, H.A. 2011. *Soybean and Nutrition*. 476 p. <https://doi.org/10.5772/1008>
- Endres, J.G. 2001. *Soy protein products: characteristics, nutritional aspects and utilization*. AOCS PRESS. Champaign, IL. 61 p. ISBN 1-893997-27-8.
- Erickson, M.C. 2008. Chapter 2: Chemistry and function of phospholipids. En: Akoh, C.C. y Min D.B. (Eds.). *Food lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology*. Thrid Edition. CRC press. 39-62. ISBN 9781845936440.
- FAO/OMS. 1980. *Informe de la primera reunión del comité del Codex sobre proteínas vegetales*. Ottawa, 3 - 7 de noviembre. ALINORM 97/33. Comisión del Codex Alimentarius. FAO, Roma.
- FAO. 1999. *Codex Standard for Named Vegetable Oils (CODEX-STAN 210)*. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/004/y2774e/y2774e04.htm#bm4.1>.

- Fennema, O.R. 2000. *Química de los Alimentos*. 2a Edición. Acribia, Ed. USA. ISBN 9788420009148.
- Fleurat-Lessard, F. 2017. Integrated management of the risks of stored grain spoilage by seedborne fungi and contamination by storage mould mycotoxins – An update. *J. Stored Prod. Res.* 71: 22–40. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2016.10.002>.
- Floyd, L.; Herum, J.K.; Mensah, H.J.; Barre, Majidzadeh, K. 1979. Viscoelastic behavior of soybeans due to temperature and moisture content. *Trans. ASAE.* 22(5): 1219–1224. <https://doi.org/10.13031/2013.35187>.
- Fujimoto, T.; Ohsaki, Y. 2006. Cytoplasmic lipid droplets: rediscovery of an old structure as a unique platform. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 104–115. <https://doi.org/10.1196/annals.1377.010>.
- Gallardo, M. 2011. Soja, harinas de extracción para la alimentación del ganado. Un análisis de las cualidades nutricionales de los diferentes tipos, de acuerdo al método de extracción utilizado. *A&G 83. Tomo XXI. 2:* 246–250.
- Gallardo, M. 2014. Ganadería de Precisión : Uso de Subproductos de La Agroindustria. En: 5° *Jornada Nacional de Forrajes Conservados*. Manfredi, Córdoba, Argentina. 11 p. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta__-5_jornada_nacional_de_forrajes_conservados_-_g.pdf
- García-Rebollar, P.; Cámara, L.; Lázar, R.P.; Dapoza, C.; Pérez-Maldonado, R.; Mateos, G.G. 2016. Influence of the origin of the beans on the chemical composition and nutritive value of commercial soybean meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 221: 245–261.
- Giner, S.A.; Gely, M.C. 2005. Sorptional parameters of sunflower seeds of use in drying and storage stability studies. *Biosyst. Eng.* 92(2): 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.06.002>.
- Gladysz, O.; Waskiewicz, A.; Ciorga, B.; Golinski, P. 2017. Soybean: growth, development and yield under salt stress. En: Ahmad, P. (Ed.). *Oilseed Crops: Yield and adaptations under enviromental stress*. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, UK. 295 p.
- Grieshop, C.M.; Kadzere, C.T.; Clapper, G.M.; Flickinger, E.A.; Bauer, L.L.; Frazier, R.L.; Fahey, G.C. 2003. Chemical and nutritional characteristics of United States soybeans and soybean meals. *J. Agric. Food Chem.* 51(26): 7684–7691. <https://doi.org/10.1021/jf034690c>.
- Guerrero García, A. 1999. *Cultivos herbáceos extensivos*. 6a edición. Madrid - Barcelona - México: Ediciones Mundi-Prensa.
- Gupta, R.K.; Das, S.K. 1997. Physical properties of sunflower seeds. *J. Agric. Eng. Res.* 66(1): 1–8. <https://doi.org/10.1006/jaer.1996.0111>.
- Hallauer, A.R. 2000. *Specialty corns*. Second Edition. CRC Press. Boca Raton - London - New York - Washington, D.C. 479 p. ISBN 0-8493-2377-0.

- Hamer, A.; Lacey, J.; Magan, N. 1991. Use of an automatic electrolytic respirometer to study respiration of stored grain. En: *Proceedings of 5th International Working Conference on Stored Product Protection*. p. 321–330.
- Haris, P.I.; Severcan, F. 1999. FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 7: 207–221. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(99\)00030-2](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(99)00030-2).
- Heywood, A.A.; Myers, D.J.; Bailey, T.B.; Johnson, L.A. 2002. Functional properties of low-fat soy flour produced by an extrusion-expelling system. *JAOCs*. 79(12): 1249–1253. <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0635-y>.
- Howel, R.W.; Collins, F.I.; Sedgwick, V.E. 1959. Respiration of soybean seeds as related to weather losses during ripening. *Agron. J.* 51(10): 677–679.
- Iglesias, H.A.; Chirife, J. 1976a. A model for describing the water sorption behavior of foods. *J. Food Sci.* 41: 984–992.
- Iglesias, H.A.; Chirife, J. 1976b. Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherms of food material. *J. Food Sci. Technol.* 11: 109–116.
- Ingrassia, R.; Palazolo, G.G.; Risso, P.H.; Wagner, J.R. 2017. Glycosylation, denaturation, and aggregation of soy proteins in defatted soy flakes flour: Influence of thermal and homogenization treatments. *Int. J. Food Prop.* 20(10): 2358–2372. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1238388>.
- INTI. 2010. Informe Final: ensayo interlaboratorio. Parámetros de calidad en expeller de soja. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Buenos Aires, Argentina. www.inti.gob.ar. 30 p.
- INTI. 2014. Informe Final: ensayo Interlaboratorio. Parámetros de calidad en expeller de soja. PRA-07/2014. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Buenos Aires, Argentina. www.inti.gob.ar. 24 p.
- Ixtaina, V.Y. 2010. Caracterización de la semilla e el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos. Tesis. En: Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Química, Universidad Nacional de La Plata. 301 p.
- Jackson, L.S.; Katta, S.K.; Fingerhut, D.D.; DeVries, J.W.; Bullerman, L.B. 1997. Effects of baking and frying on the fumonisin B1 content of corn-based foods. *J. Agric. Food Chem.* 45(12): 4800–4805. <https://doi.org/10.1021/jf970405b>.
- Jayas, D.S.; Mazza, G. 1991. Equilibrium moisture characteristics of safflower seeds. *Trans. ASAE*. 34(5): 2099–2103.
- Juan, N.A.; Massigogue, J.I.; Errasquin, L.; Méndez, J.M.; Ochandio, D.C.; Saavedra, A.E.; Paolilli, M.C.; Alladio, R.M.; Accoroni, C.; Behr, E.F. 2015. *Calidad de la soja procesada y del expeller producido por la industria de extrusado-prensado en Argentina*. Ediciones

INTA. 31 p.

- Kang, I.J.; Matsumura, Y.; Mori, T. 1991. Characterization of texture and mechanical properties of heat-induced soy protein gels. *JAOCS*. 68(5): 339–345. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80143-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80143-4).
- Karr-Lilienthal, L.K.; Bauer, L.L.; Utterback, P.L.; Zinn, K.E.; Frazier, R.L.; Parsons, C.M.; Fahey, G.C. 2006. Chemical composition and nutritional quality of soybean meals prepared by extruder/expeller processing for use in poultry diets. *J. Agric. Food Chem.* 54(21): 8108–8114.
- Karr-Lilienthal, L.K.; Grieshop, C.M.; Merchen, N.R.; Mahan, D.C.; Fahey, G.C. 2004. Chemical composition and protein quality comparisons of soybeans and soybean meals from five leading soybean-producing countries. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6193–6199. <https://doi.org/10.1021/jf049795+>.
- Karunakaran, C.; Muir, W.E.; Jayas, D.S.; White, N.D.G.; Abramson, D. 2001. Safe storage time of high moisture wheat. *J. Stored Prod. Res.* 37: 303–312. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11172866>.
- Katta, S.K.; Bullerman, L.B. 1995. Effects of high temperature and relative humidity on mold content and quality of stored popcorn. *J. Food Prot.* 58(9): 1018–1022. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.9.1018>.
- Kinsella, J.E. 1979. Functional properties of soy proteins. *JAOCS*. 56(3): 242–258. <https://doi.org/10.1007/BF02671468>.
- Kinsella, J.E.; Melachouris, N. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *C R C Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7(3): 219–280. <https://doi.org/10.1080/10408397609527208>.
- Kumudini, S. 2010. Chapter 3: Soybean growth and development. En: Singh G. (Ed.). *The soybean: botany, production and uses*. CABI. 494 p. ISBN 9781845936440.
- Kwok, K.; Niranjana, K. 1995. Review: effect of thermal processing on soymilk. *Int. J. Food Sci. Technol.* 30: 263–295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb01377.x>.
- Lacey, J.; Hamer, A.; Magan, N. 1994. Respiration and losses in stored wheat under different environmental conditions. En: Highley, E.; Wright, E.J.; Banks, H.J.; Champ, B.R. (Eds.). *Proceeding of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection*. Canberra, Australia. p. 1007-1013.
- Lacey, J.; Hill, S. T.; Edwards, M.A. 1980. Micro-organisms in stored grains: their enumeration and significance. *Trop. Stored Prod. Inf.* 39: 19–33.
- Liener, I.E. 1994. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34(1): 31-67. <https://doi.org/10.1080/10408399409527649>.
- Liu, K. 1997. Chapter 2: chemistry and nutritional value of soybean components. En: Chapman y Hall (Eds.). *Soybeans: chemistry, technology, and utilization*. p. 25–113. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1763-4_2.

- Liu, Q.; Cao, C.; Bakker-Arkema, F.W. 1997. Modeling and analysis of mixed-flow grain dryer. *Trans. ASAE*. 40(4): 1099–1106.
- Lusas, E.W.; Rhee, K.C. 1995. Soy protein processing and utilization. En: Erickson, D.R. (Ed.) *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. AOCS Press. Urbana, IL. p. 117-160. ISBN 9780935315639. <https://doi.org/10.1016/b978-0-935315-63-9.50012-7>.
- Maciel, G.; de la Torre, D.A.; Cendoya, M.G.; Izquierdo, N.G.; Bartosik, R.E. 2018. Development of the Enhanced Halsey Model to predict equilibrium moisture content (EMC) of sunflower seeds with different oil contents. *Trans. ASABE*. 61(4): 8. <https://doi.org/https://doi.org/10.13031/trans.12773>.
- Maciel, G.; de la Torre, D.; Izquierdo, N.; Cendoya, G.; Bartosik, R. 2015. Effect of oil content of sunflower seeds on the equilibrium moisture relationship and the safe storage condition. *Agric Eng Int: CIGR Journal*. 17(2): 248–258.
- Magan, N.; Medina, A.; Aldred, D. 2011. Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathol*. 60(1). 150–163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02412.x>.
- Magan, N.; Sanchis, V.; Aldred, D. 2003. The role of spoilage fungi in seed deterioration. <https://doi.org/10.1201/9780203913369.ch28>.
- Marasas, W.F.O. 2001. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environ. Health Perspect*. 109(2): 239–243. <https://doi.org/10.2307/3435014>.
- Marcos Valle, F.J. 2015. *Tasa respiratoria de granos de maíz (Zea mays) y su microbiota asociada en almacenamiento hermético*. MSc tesis. En: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 170 p.
- Massigoge, J.I.; Ochandio, D.C.; Juan, N.A. 2013. Industria de extrusado-prensado de soja en la mitad sur de la provincia de Buenos Aires. En: Boletín técnico N°40. Ediciones INTA. ISSN 0327-8735. 16 p.
- McNaughton, J.L.; Reece, F.N.; and Deaton, J.W. 1981. Relationships Between Color, Trypsin Inhibitor Contents, and Urease Index of Soybean Meal and Effects on Broiler Performance. *Poultry Sci*. 60: 393–400.
- Medic, J.; Atkinson, C.; Hurburgh, C.R. 2014. Current knowledge in soybean composition. *JAOCs*. 91(3): 363–384. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2407-9>.
- Metzger, D.D.; Hsu, K.H.; Ziegler, K.E.; Bern, C.J. 1989. Effect of moisture content on popcorn popping volume for oil and hot-air popping. *Cereal Chem*. 66(3): 247–248. Retrieved from http://www.aaccnet.org/publications/cc/backissues/1989/documents/66_247.pdf.
- Milner, M.; Geddes, W.F. 1946. Grain storage studies: III. The relation between moisture content, mold growth, and respiration of soybeans. *Cereal Chem*. 23(3): 225–246.
- MinAgro. 2017. Estimaciones agrícolas: producción argentina de soja. Ministerio de Agroindustria. Retrieved from <https://datos.agroindustria.gob.ar/dataset/estimaciones>

- agricolas/archivo/95d066e6-8a0f-4a80-b59d-6f28f88eacd5 [Consulta: diciembre 2017].
- Mustakas, G.C.; Griffin, E.L.; Allen, L.E.; Smith, O.B. 1964. Production and nutritional evaluation of extrusion-cooked full-fat soybean flour. *JAOCS*. 41(9): 607–614. <https://doi.org/10.1007/BF02664977>.
- Mustakas, G.C.; Moulton, K.J.; Baker, E.C.; Kwolek, W.F. 1981. Critical processing factors in desolventizing-toasting soybean meal for feed. *JAOCS*. p. 300–305.
- Navarro, H.; Navarro, S.; Finkelman, S. 2012. Hermetic and modified atmosphere storage of shelled peanuts to prevent free fatty acid and aflatoxin formation. *Integrated Protection of Stored Products IOBC/WPRS Bulletin*. 81(7): 183–192. Retrieved from http://apps.webofknowledge.com.ezproxy1.library.usyd.edu.au/full_record.do?product=CA&BI&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=U1U6hzXlvB2lBjvW5eE&page=1&doc=1&cacheurlFromRightClick=no.
- Navarro, S. 1998. Pressure tests for gaseous applications in sealed storages: theory and practice. En: Zuxun, J.; Quan, L.; Yongsheng, L.; Xianchang, T.; Lianghua, G. (Eds.). *Proc. 7th Int. wkg. Conf. Stored-Product Protection*. Beijing, China. 1: 385–390.
- Navarro, S. 2006. Chapter 11: modified atmospheres for the control of stored-product insects and mites. En: *Insect Management for Food Storage and Processing*. pp. 105–146.
- Nelson, A.I.; Wijeratne, W.B.; Yeh, S.W.; Wei, T.M.; Wei, L.S. 1987. Dry extrusion as an aid to mechanical expelling of oil from soybeans. *JAOCS*. 64(9): 1341–1347. <https://doi.org/10.1007/BF02540794>.
- Nishinari, K.; Fang, Y.; Guo, S.; Phillips, G.O. 2014. Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocoll.* 39: 301–318. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.01.013>.
- Núñez-Romero, N.; García-Rebollar, P.; Lázaro, R.; Serrano, M.P.; Mateos, G.G. 2009. Estudio Preliminar Para Identificar El Origen de Las Harinas de Soja Mediante Tecnologías NIRS y Medición de Color. En: *XIII Jornadas sobre Producción Animal - Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario*. Zaragoza, España. Tomo I, 217–219.
- Nzai, J.M.; Proctor, A. 1998. Determination of phospholipids in vegetable oil by fourier transform infrared spectroscopy. *JAOCS*. 75(10): 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0173-x>.
- Ochandio, D. 2014. *Tasa respiratoria del ecosistema granos de soja (glycine max) en ambientes de almacenamiento hermético*. MSc Tesis. En: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 86 p.
- Ochandio, D.; Bartosik, R.; Gastón, A.; Abalone, R.; Arias Barreto, A.; Yommi, A. 2017. Modelling respiration rate of soybean seeds (*Glycine max* (L.)) in hermetic storage. *J. Stored Prod. Res.* 74: 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.09.001>.
- Olguin, M.C.; Hisano, N.; D'Ottavio, A.E.; Zingale, M.I.; Revelant, G.C.; Calderari, S.A. 2003.

- Nutritional and antinutritional aspects of an Argentinian soy flour assessed on weanling rats. *J. Food Comp. Anal.* 16(4): 441–449. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00005-X](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00005-X).
- Oliveira, L.S.; Haghighi, K. 1998. Conjugate heat and mass transfer in convective drying of multiparticle systems. Part II: soybean drying. *Dry. Technol.* 16(3–5): 463–483. <https://doi.org/10.1080/07373939808917419>.
- Ordóñez, M.R.; Gely, M.C.; Pagano, A.M. 2012. Estudio de las propiedades físicas y de la cinética de secado de granos de maíz colorado duro. *Av. cien. ing.* 3(3): 153–171. Retrieved from http://www.exeeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/.
- Oviedo, M.S.; Ramirez, M.L.; Barros, G.G.; Chulze, S.N. 2011. Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternata* on irradiated soya beans. *Int. J. Food Microbiol.* 149(2): 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.06.007>.
- Pacin, A. 2006. ¿Existe un diagnóstico sobre micotoxinas en soja en Argentina?. Workshop calidad de la producción y granos con valor agregado. Mercosoja, Rosario – Santa Fe, Argentina. p. 285–287.
- Papadopoulos, M.C. 1989. Effect of processing on high-protein feedstuffs: a review. *Biol. Wastes.* 29: 123–138. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(89\)90092-X](https://doi.org/10.1016/0269-7483(89)90092-X).
- Parsons, C.M.; Hashimoto, K.; Wedekind, K.J.; Baker, D.H. 1991. Soybean protein solubility in potassium hydroxide: an in vitro test of in vivo protein quality. *J. Anim. Sci.* 69(7): 2918–2924. <https://doi.org/10.2527/1991.6972918x>.
- Perkins, E.G. 1995. Chapter 2: Composition of soybeans and soybean products. Erickson, D.R. (Ed.) En: *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. AOCS PRESS. Urbana, IL. p. 9–28. ISBN 9780935315639. <https://doi.org/10.1016/B978-0-935315-63-9.50006-1>.
- Pitt, J.I.; Hocking, A.D. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Third Edition. Springer International Publishing. Springer US. p. 520. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>.
- Pixton, S.W. 1967. Moisture content—Its significance and measurement in stored products. *J. Stored Prod. Res.* 3: 35–47. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(67\)90085-9](https://doi.org/10.1016/0022-474X(67)90085-9).
- Pixton, S.W.; Warburton, S. 1971. Moisture content relative humidity equilibrium, at different temperatures, of some oilseeds of economic importance. *J. Stored Prod. Res.* 7: 261–269.
- Pixton, S.W.; Warburton, S. 1975. The moisture content/equilibrium relative humidity relationship of soya meal. *J. Stored Prod. Res.* 11: 249–251.
- PRECOP. Casini, C. Informe técnico: almacenamiento de soja. Retrieved from <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/postcosecha/AlmacenamientoSoja.asp> [Consulta: marzo 2019].

- Pronyk, C.; Abramson, D.; Muir, W.E.; White, N.D.G. 2006. Correlation of total ergosterol levels in stored canola with fungal deterioration. *J. Stored Prod. Res.* 42(2): 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2004.12.004>.
- Pronyk, C.; Muir, W.E.; White, N.D.G.; Abramson, D. 2004. Carbon dioxide production and deterioration of stored canola. *Can. Biosyst. Eng.* 46: 25–33.
- Qiu, L.; Chang, R. 2010. Chapter 1: The origin and history of soybean. En: Singh G. (Ed.). *The soybean: botany, production and uses*. CABI. 494 p. ISBN 9781845936440.
- Rafiee, S.; Keyhani, A.; Sharifi, M.; Jafari, A.; Mobli, H.; Tabatabaeefar, A. 2009. Thin layer drying properties of soybean (*Viliamz Cultivar*). *J. Agric. Sci. Technol.* 11: 289–300.
- Rheeder, J.P.; Marasas, W.F.O.; Vismer, H.F. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5): 2101–2105. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2101>.
- Ricca, A.P. 2012. Gestion de la inocuidad en los granos para potenciar su valor agregado. En: *1° Congreso de valor agregado en origen. Integración asociativa del campo a la góndola*. Ediciones INTA. Manfredi, Córdoba, Argentina. p. 225–229.
- Ridner, E. 2006. *Soja: propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. 1ra edición. Buenos Aires, Argentina. Grupo Q S.A.: Sociedad Argentina de Nutrición. p. 96. ISBN 987-23125-0-8.
- Rueda, J.; Kill-Chang, Y.; Martínez-Bustos, F. 2004. Functional characteristics of texturized defatted soy flour. *Agrociencia*. 38: 63–73.
- Rukunudin, I.H.; Bern, C.J.; Misra, M.K.; Bailey, T.B. 2004. Carbon dioxide evolution from fresh and preserved soybeans. *Trans.ASAE*. 47(3): 827–834.
- SAGPyA. 1999. *Resolución SAGPyA N°317/99. Norma XIX: Subproductos de oleaginosos*.
- SAGPyA. 2004. *Resolución SAGPyA N° 1262/2004. Norma XIX: Tigo pan*.
- SAGPyA 2010. Soja: zonas de producción. Dispersión geográfica del cultivo en función del área sembrada promedio de las últimas cinco campañas. Dirección de Coordinación de Delegaciones. Estimaciones Agrícolas. <https://www.prensarural.org/spip/spip.php?article3695> [Consulta: febrero 2020].
- SAGyP. 1994. *Resolución SAGyP N° 1075/94. Norma XXVI: Metodologías varias*.
- Salunkhe, D.K.; Chavan, J.K.; Adsule, R.N.; Kadam, S.S. 1992. *World Oilseed: Chemistry, Technology and Utilization*. New York, USA: Van Nostrand Reinhold. p. 580. ISBN 978-0442001124.
- Samson, R.A.; Hoekstra, E.S.; Frisvad, J.C. 2004. *Introduction to food- and airborne fungi*. 7th Edition, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. p. 389. ISBN 9070351528.
- Saul, R.A.; Steele, J.L. 1966. Why damaged shelled corn costs more to dry. *Agric. Eng.* 47(6): 326–329.

- Scott, P.M.; Lawrence, G.A. 1995. Analysis of beer for fumonisins. *J. Food Prot.* 58(12): 1379–1382. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.12.1379>.
- Secretaría de Agroindustria. 2019. Soja con destino a la industria. Retrieved from <https://datos.agroindustria.gob.ar/dataset/soja-con-destino-a-la-industria> [Consulta: enero 2019].
- Sessa, D.J. 1992. Hydration effects on the thermal stability of proteins in cracked soybeans and defatted soy flour. *Lebensmittel-Wissenschaft + [i.e. Und] Technologie.* 25(4): 365 p. ISSN 0023-6438.
- Singh, B.R. 2000. Chapter 1: Basic aspects of the technique and applications of infrared spectroscopy of peptides and proteins. En: Singh, B.R. (Ed.). *Infrared Analysis of Peptides and Proteins: Principles and Applications.* p. 2-37. ISBN 9780841236363. <https://doi.org/10.1021/bk-2000-0750.ch001>.
- Smit, M.N.; Landero, J.L.; Young, M.G.; Beltranena, E. 2018. Effects of feeding canola meal or soy expeller at two dietary net energy levels on growth performance, dressing and carcass characteristics of barrows and gilts. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235: 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.013>.
- Sobral, P.A.; Palazolo, G.G.; Wagner, J.R. 2012. Evaluación de los cambios estructurales de las proteínas de soja durante el proceso de obtención de harina desgrasada de soja. *A&G* 87. Tomo XXII. 2: 82–90.
- Sood, K. 2015. *Design and evaluation of a grain respiration measurement system for dry matter loss of soybeans.* MS Thesis. En: University of Illinois at Urbana-Champaign. 92 p.
- Sorgentini, D.A.; Wagner, J.R. 1999. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins. *J. Food Biochem.* 23(5): 489–507. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1999.tb00033.x>.
- Steele, J.L. 1967. *Deterioration of damaged shelled corn as measured by carbon dioxide production.* PhD Thesis. En: Iowa State University. 187 p.
- Steele, J.L.; Saul, R.A.; Hukill, W.V. 1969. Deterioration of shelled corn as measured by carbon dioxide production. *Trans. ASAE.* 33(4): 685–689.
- Stroka, J.; Gonc, C. 2019. Mycotoxins in food and feed : an overview. *Ency. Food Chem.* 401–419. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814026-0.21801-5>.
- Suleiman, R.; Rosentrater, K.A.; Bern, C.J. 2013. Effects of deterioration parameters on storage of maize: a review. *J. Nat. Sci. Res.* 3(9): 2224–3186. <https://doi.org/10.13031/aim.20131593351>.
- Sun, K.; Jian, F.; Jayas, D.S.; White, N.D.G. 2014. Quality changes in high and low oil content canola during storage: Part I - Safe storage time under constant temperatures. *J. Stored Prod. Res.* 59: 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.05.007>.
- Sun, W.Q. 2002. Methods for the study of water relations under desiccation stress. En: Black,

- M.; Prichard, H.W. (Eds.). *Desiccation and survival in plants: drying without drying*. Willingford, UK. CABI Publishing. p. 47–92.
- Tanaka, M.; Girard, G.; Davis, R.; Peuto, A.; Bignell, N. 2001. Recommended table for the density of water between 0 °C and 40 °C based on recent experimental reports. *Metrología*. 38(4): 301–309. <https://doi.org/10.1088/0026-1394/38/4/3>.
- Tang, C., & Ma, C. 2009. LWT - Food Science and Technology Effect of high pressure treatment on aggregation and structural properties of soy protein isolate. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2), 606–611. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.012>
- Team, R.Core. 2018. R: a language and environment for statistical computing. Retrieved from <https://www.r-project.org/>.
- USDA. 2019. *World Agricultural Production. Circular Series WAP 7-19*. United States Department of Agriculture. Retrieved from <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> [Consulta: enero 2019].
- Valencia Ramírez, R.A. 2006. Origen, taxonomía y morfología de la soya. En: Jaramillo S., C.A.; Cubillos Quintero, N. (Eds.). *Soya (glycine Max (l.) Merrill" Alternativa Para Los Sistemas de Producción de la Orinoquia Colombiana*. Villavicencio, Meta, Colombia. CORPOICA C.I. La Libertad. 224 p.
- Van Burkalow, A. 1945. Angle of repose and angle of sliding friction: an experimental study. *Geol. Soc. Am. Bull.* 56: 669–707.
- Vilche, C.; Gely, M.; Santalla, E. 2003. Physical properties of quinoa seeds. *Biosyst. Eng.* 86(1): 59–65. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00114-4](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00114-4).
- Wagner, J.; Añon, M. 1990. Influence of denaturation, hydrophobicity content on solubility and water absorbing protein isolates. *J. Food Sci.* 55(3): 765–770.
- Wang, C.; Jiang, L.; Wei, D.; Li, Y.; Sui, X.; Wang, Z.; Li, D. 2011. Effect of secondary structure determined by FTIR spectra on surface hydrophobicity of soybean protein isolate. *Procedia Eng.* 15: 4819–4827. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.08.900>.
- Wang, T.; Johnson, L.A. 2001. Survey of soybean oil and meal qualities produced by different processes. *JAOCs*. 78(3): 311–318.
- Waseem, S.; Ruqia Imadi, S.; Gul, A.; Ahmad, P. 2017. Oilseed crops: present scenario and future prospects. En: Ahmad, P. (Ed.). *Oilseed Crops: yield and adaptations under enviromental stress*. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, UK. 295 p.
- Weinberg, Z.G.; Yan, Y.; Chen, Y.; Finkelman, S.; Ashbell, G.; Navarro, S. 2008. The effect of moisture level on high-moisture maize (*Zea mays L.*) under hermetic storage conditions-in vitro studies. *J. Stored Prod. Res.* 44(2): 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.08.006>.
- White, N.D.G.; Sinha, R.N.; Muir, W.E. 1982. Intergranular carbon dioxide as an indicator of biological activity associated with the spoilage of stored wheat. *Can. Agric. Eng.* 24: 35-42.

- Wilson, R.F. 1995. Dealing with the problems of fungal damage in soybean and other oilseeds. *JAOCS*. 72(12): 1413–1414. <https://doi.org/10.1007/BF02577829>.
- Woerfel, J.B. 1995. Chapter 6: Extraction. En: Erickson, R.D. (Ed.) *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization*. p. 65–92. <https://doi.org/10.1016/B978-0-935315-63-9.50010-3>.
- Woyengo, T.A.; Beltranena, E.; Zijlstra, R.T. 2017. Effect of anti-nutritional factors of oilseed co-products on feed intake of pigs and poultry. *Anim. Feed Sci. Technol.* 233: 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.006>.
- Wu, Y.; Wang, T. 2003. Total and polar lipids in soybean protein meals. *JAOCS*. 80(10): 983–985. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0807-9>.
- Yang, Z.; Zhu, E.; Zhu, Z. 2015. Water desorption isotherm and drying characteristics of green soybean. *J. Stored Prod. Res.* 60: 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.10.006>.
- Yu, P. 2011. Dry and moist heating-induced changes in protein molecular structure, protein subfraction, and nutrient profiles in soybeans. p. 6092–6102. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4619>.
- Zelaya, M.J.; González, H.H.L.; Resnik, S.L.; Pacin, A.M. 2013. Mycobiota and potential mycotoxin contamination of soybean RR in different production areas in Argentina. *Int. Res. J. Plant Sci.* 4(5): 133–143.
- Zelaya, M.J.; González, H.L.; Resnik, S.L.; Martinez, M.J. 2005. Microflora contaminante en soja cosechada en la principal zona de producción de la república Argentina. En: *X Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Primer Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías*. Mar del plata, Buenos Aires, Argentina. 318 p.
- Zhang, Y.; Parsons, C.M. 1993. Effects of extrusion and expelling on the nutritional quality of conventional and kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. *Poult. Sci.* 72: 2299–2308.
- Zhu, S.; Riaz, M.N.; Lusas, E.W. 1996. Effect of different extrusion temperatures and moisture content on lipoxygenase inactivation and protein solubility in soybeans. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3315–3318. <https://doi.org/10.1021/jf960065e>.

ANEXOS

ANEXO I: Composición química del poroto de soja obtenida por medio de NIRS para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P

Planta	Muestra	NIRS		
		CHp (% b.s.)	CPp (% b.s.)	CAp (% b.s.)
1	P-002	12,6	38,2	19,7
	P-003	12,2	38,0	20,1
	P-004	12,4	37,8	20,3
	P-005	11,3	38,6	20,2
	P-006	13,4	38,4	20,2
	P-007	13,4	39,1	19,9
	P-008	12,3	39,2	20,2
2	P-009	14,9	38,3	21,1
	P-010	14,4	38,9	20,7
	P-011	14,7	38,6	21,2
	P-030	12,9	37,6	20,0
	P-031	12,9	38,0	20,0
3	P-012	13,1	37,3	20,0
	P-013	9,5	40,5	20,2
	P-014	11,5	39,2	20,6
4	P-015	14,9	37,3	20,3
	P-016	11,5	40,2	19,1
	P-017	12,8	40,3	19,4
5	P-018	11,4	40,2	19,4
	P-019	9,4	38,2	22,7
	P-020	11,3	37,9	22,1
6	P-021	10,9	39,6	20,7
	P-022	8,2	40,6	20,7
	P-023	8,0	41,4	20,0
7	P-024	9,2	40,6	20,3
	P-025	11,4	37,6	21,8
	P-026	11,4	38,5	21,6
8	P-027	11,7	38,7	21,3
	P-028	13,1	36,4	23,0
	P-029	12,7	37,1	22,1
9	P-032	13,1	33,9	18,4
	P-033	15,5	32,7	17,8
	P-034	10,4	34,3	19,5
10	P-035	11,3	34,7	18,3
	P-036	11,4	34,7	17,7
	P-037	11,6	34,8	18,3
11	P-038	12,8	34,0	19,8
	P-039	11,9	34,2	18,5
	P-040	9,4	35,4	18,7
	P-041	9,7	35,2	18,4

Nota: CH es contenido de humedad, CP es contenido de proteína, CA es contenido de aceite y p es poroto de soja

ANEXO II: Composición química del expeller de soja para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P

Planta	Muestra	NIRS						EfEx (%)
		CHe (% b.s.)	MSe (%)	CPe (% b.s.)	CAe (% b.s.)	Ceniza (% b.s.)	Fibra (% b.s.)	
1	E-002	6,2	94,1	41,7	9,3	5,9	5,8	52,7
	E-003	6,1	94,2	41,4	8,5	5,9	5,9	57,7
	E-004	6,3	94,1	42,2	9,0	5,9	5,4	55,4
	E-005	5,5	94,8	43,2	7,8	5,9	5,5	61,2
	E-006	7,0	93,5	41,5	10,3	5,7	5,4	48,7
	E-007	6,4	94,0	43,2	9,2	5,8	5,1	53,9
	E-008	5,8	94,5	43,9	8,0	5,8	5,2	60,3
2	E-009	12,5	88,9	43,0	9,9	6,7	4,5	53,2
	E-010	14,0	87,7	43,9	9,6	6,8	4,2	53,7
	E-011	13,9	87,8	43,5	9,8	6,8	4,6	53,7
	E-030	9,1	93,2	44,3	8,6	6,2	6,3	62,9
	E-031	10,4	93,3	43,4	8,7	6,3	5,6	60,9
3	E-012	7,2	93,2	39,6	15,5	6,1	5,3	22,8
	E-013	7,2	93,3	39,4	15,4	6,1	5,4	22,9
	E-014	7,3	94,2	39,6	15,3	6,1	5,2	23,2
4	E-015	7,2	91,9	40,5	14,0	5,9	6,2	30,5
	E-016	6,2	89,5	44,1	8,3	5,8	5,9	59,6
	E-017	8,8	89,6	41,5	12,8	6,2	4,8	37,0
5	E-018	11,7	92,0	45,5	9,2	6,2	4,6	51,8
	E-019	11,6	95,1	45,2	8,0	6,3	5,1	58,8
	E-020	8,7	94,4	45,2	9,3	6,1	4,4	52,1
6	E-021	5,2	95,4	43,2	8,1	6,2	6,9	64,5
	E-022	5,9	95,0	45,3	7,3	6,2	6,6	67,1
	E-023	4,8	95,5	42,8	6,2	6,0	6,2	69,8
7	E-024	5,3	95,4	48,0	6,2	6,5	5,8	69,9
	E-025	4,7	93,9	47,8	5,9	6,3	6,1	70,4
	E-026	4,8	93,6	47,5	6,3	6,4	6,6	68,8
8	E-027	6,4	93,6	45,2	5,5	6,4		74,6
	E-028	6,8	91,7	45,5	5,5	6,4		74,7
	E-029	6,8	90,6	43,4	6,3	6,2		70,3
9	E-032	5,6	94,7	45,8	7,3	6,2	5,2	60,3
	E-033	8,3	92,3	43,3	11,0	6,1	4,8	38,3
	E-034	4,3	95,8	45,1	6,7	6,4	5,3	65,5
10	E-035	6,8	93,6	45,8	7,3	6,2	4,6	60,2
	E-036	6,8	93,6	45,8	7,2	6,1	4,6	59,4
	E-037	7,0	93,5	45,5	7,3	6,2	4,4	59,9
11	E-038	5,1	95,1	43,1	8,3	6,1	6,9	57,8
	E-039	4,1	96,1	41,9	8,0	6,1	6,3	56,4
	E-040	4,1	96,0	44,5	7,0	6,4	5,6	62,5
	E-041	4,4	95,8	45,1	7,8	6,4	5,6	57,7

Nota: CH es contenido de humedad, MS es el contenido de materia seca, CP es contenido de proteína, CA es contenido de aceite, e es expeller de soja y EfEx es la eficiencia de extracción

ANEXO III: Características físicas y de calidad del expeller de soja para cada una de las muestras evaluadas en las diferentes plantas de E-P

Planta	Muestra	Color			Angulo de reposo (°)	Peso hectolítrico (kg/hl)		Acidez (%)	Actividad ureásica (u pH)	Sol en KOH (%)
		L*	a*	b*		Schopper	Adaptado			
1	E-002				50	45,1	48,2	2,7	0,01	82,1
	E-003				35	47,3	44,2	3,1	0,01	83,1
	E-004				55	47,8	44,8	3,2	0,02	83,5
	E-005				50	48,9	44,6	3,4	0,02	79,3
	E-006				45	44,6	43,5	2,7	0,04	83,9
	E-007				40	45,4	43,5	3,2	0,01	84,7
	E-008				35	48,6	46,3	2,7	0,05	82,6
2	E-009	72,9	-2,2	26,9	55	53,2	44,9	3,7	0,33	77,6
	E-010	76,9	-2,0	27,3	52	51,3	44,2	3,5	0,26	75,4
	E-011	77,3	-2,0	26,5	53	53,4	43,5	3,8	0,28	75,9
	E-030	81,3	-2,8	22,5	37		44,7	2,0	0,07	82,0
	E-031	80,6	-2,8	24,5	39		43,5	1,8	0,13	82,6
3	E-012	75,1	-1,7	29,1	52	56,2	49,0	2,7	0,50	75,0
	E-013	74,2	-1,5	30,0	52	57,4	48,4	2,6	0,54	75,1
	E-014	74,4	-1,6	29,9	53	57,7	48,6	2,6	0,54	76,3
4	E-015	74,0	-3,6	34,3	45	44,0	43,6	3,8	0,15	75,0
	E-016	78,4	-4,1	29,3	44	38,2	32,5	3,0	0,03	77,6
	E-017	77,2	-5,0	31,7	39	49,2	39,1	2,1	0,05	75,6
5	E-018				42	39,7	36,7	3,0	0,01	78,5
	E-019				43	47,7	36,0	2,4	0,00	78,3
	E-020				41	41,7	35,5	2,4	0,01	83,5
6	E-021	81,4	-2,7	22,6	44	58,5	47,7	2,4	0,00	75,2
	E-022	81,4	-2,6	21,7	39	50,9	45,5	1,9	0,02	77,1
	E-023	81,6	-2,4	21,8	42	46,8	45,2	2,9	0,00	77,3
7	E-024	83,4	-2,2	21,6	60	42,8	43,0	2,0	0,62	78,0
	E-025	81,9	-2,1	21,1	50	35,5	38,1	2,4	0,00	75,0
	E-026	82,5	-2,4	20,8	29	55,2	43,5	2,0	0,18	80,9
8	E-027								0,03	76,2
	E-028								0,03	77,0
	E-029								0,03	78,1
9	E-032	77,1	-3,2	26,3	39	24,9	44,2	2,3	0,04	79,7
	E-033	76,7	-3,2	28,3	37	35,7	47,7	2,5	0,05	81,1
	E-034	79,3	-3,1	24,3	56	23,2	44,1	2,9	0,01	76,7
10	E-035	79,2	-2,2	23,6		16,6		2,1	0,00	84,3
	E-036	78,6	-2,5	24,6		17,0		2,1	0,01	84,1
	E-037	78,5	-2,2	24,6		18,5		1,9	0,00	81,4
11	E-038	80,4	-3,3	24,8	45		39,3	2,4	0,54	83,6
	E-039	77,6	-2,3	23,0	60		42,9	2,5	0,09	77,5
	E-040	77,6	-2,2	22,9	43		42,1	3,2	0,08	71,8
	E-041	78,1	-1,9	23,0	45		50,3	2,9	0,03	65,2

ANEXO IV: Cuantificación de diferentes micotoxinas analizadas para poroto de soja provenientes de diferentes plantas de E-P

Planta	Muestra	DON (ug/kg)	FB ₁ (ug/kg)	FB ₂ (ug/kg)	AFB ₁ (ug/kg)	AFB ₂ (ug/kg)	AFG ₁ (ug/kg)	AFG ₂ (ug/kg)
2	P-009	1455,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-010	1766,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-011	1869,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-030	576,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-031	901,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	P-012	1547,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-013	882,0	920,4	239,3	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-014	1732,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	P-015	496,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-016	708,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-017	1599,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	P-021	1534,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-022	1732,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-023	1180,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	P-024	1230	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-025	835,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-026	620,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	P-032	903,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-033	988,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-034	1808,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
11	P-038	1948,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-039	1180,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-040	1106,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P-041	1910,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Nota: DON es Deoxinivalenol, FB₁ y FB₂ son las fumonisinas B₁ y B₂, y AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ son las es aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, respectivamente

ANEXO V: Cuantificación de diferentes micotoxinas analizadas para expeller de soja provenientes de diferentes plantas de E-P

Planta	Muestra	DON (ug/kg)	FB ₁ (µg/kg)	FB ₂ (ug/kg)	AFB ₁ (ug/kg)	AFB ₂ (ug/kg)	AFG ₁ (ug/kg)	AFG ₂ (ug/kg)
2	E-009	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	1,3
	E-010	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,6
	E-011	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-030	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
	E-031	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,6
3	E-012	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,5
	E-013	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,9
	E-014	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,1
4	E-015	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-016	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-017	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
6	E-021	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,5
	E-022	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,6
	E-023	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	E-024	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-025	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5	1,7
	E-026	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	E-032	1038,4	672,0	159,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-033	2385,2	765,0	256,5	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-034	741,6	712,3	127,0	0,0	0,0	0,0	0,0
11	E-038	529,2	720,0	378,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-039	1573,8	799,2	231,8	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-040	706,7	514,3	180,4	0,0	0,0	0,0	0,0
	E-041	514,6	845,6	122,0	0,0	0,0	0,0	0,0

ANEXO VI: Ensayos preliminares para ajustar el procedimiento para determinar las isothermas de sorción del expeller de soja

1. Introducción

Este trabajo preliminar se realizó a los fines de ajustar la metodología de los ensayos de determinación de las isothermas de sorción del Capítulo III.

2. Metodología

2.1. Selección y preparación de las muestras de expeller de soja

Los ensayos preliminares se realizaron utilizando dos muestras de expeller de soja con diferente contenido de aceite residual obtenidas de diferentes plantas de E-P, recolectadas y acondicionadas como se describió en la sección 4.3.1. del Capítulo I. Las muestras seleccionadas en este caso fueron la E-011 y E-013 con 9,8 y 15,4% de aceite residual en su composición, cuya determinación fue realizada por medio de NIRS (FOSS, DS2500, Dinamarca) como se describió en la sección 4.3.3.2.1.1. del Capítulo I.

2.2. Determinación del tiempo de estabilización del expeller de soja a 25 °C

Se preparó una solución de glicerol a 64% de concentración (p/p) para obtener una HR de 70% (Tabla A.1.) (Sun, 2002). 100 ml de dicha solución fueron vertidos dentro de cuatro recipientes plásticos herméticos (tipo *tupper*) de 2197 ml de capacidad. Seguidamente, 10 g de cada muestra fueron colocadas en recipientes metálicos y estos dentro de los recipientes plásticos herméticos (por triplicado). Previamente, con una malla plástica se armó una estructura para sostener los recipientes metálicos dentro de los *tuppers* sin que entren en contacto con la solución de glicerol. Dentro de cada *tupper* se colocó además un sensor de HR y temperatura (Ibutton, EEUU). Una vez cerrados los *tuppers* se colocaron en una cámara a 25°C de temperatura constante.

Tabla A.1. Humedades relativas de equilibrio (HRE) generadas por diferentes concentraciones de soluciones de glicerol a diferentes temperaturas. La masa de glicerol se expresa como % (p/p) (gramos de glicerol por 100 gramos de solución). Fuente: Sun (2002)

Glicerol (masa, %)	HRE (%)		
	10 °C	20 °C	25 °C
10	98,1	98,2	98,3
12	97,7	97,8	97,8
14	97,2	97,3	97,4
16	96,6	96,8	96,9
18	96,1	96,2	96,3
20	95,5	95,6	95,7
24	94,1	94,3	94,4
28	92,6	92,9	93,0
32	91,0	91,3	91,4
36	89,1	89,4	89,6
40	87,0	87,4	87,6
44	84,7	85,1	85,3
48	82,2	82,7	82,9
52	79,5	80,0	80,2
56	76,5	77,0	77,2
60	73,0	73,6	73,8
64	69,3	69,9	70,1
68	65,2	65,8	66,1
72	60,6	61,2	61,5
76	55,6	56,2	56,5
80	49,8	50,5	50,8
84	43,4	44,0	44,4
88	35,9	36,5	36,9

Cada uno de los recipientes plásticos herméticos fue asignado aleatoriamente a cuatro tiempos previamente establecidos (t1, t2, t3 y t4 para 24, 48, 72, y 96 horas, respectivamente). Una vez transcurridos los tiempos de estabilización se retiró la muestra de expeller y se midió el contenido de humedad por el método de estufa que se detalla a continuación.

2.3. Determinación del contenido de humedad por el método de estufa

Se realizaron curvas de secado del expeller de soja evaluando diferentes cantidades de muestra, diferente tamaño de partícula (molido y sin moler) y tiempos de secado variables, y se determinó la mejor condición de análisis de este subproducto, ya que la norma no establece estas condiciones (Tabla A.2.). Se tomó como referencia la norma de ASAE Standard S352 (2003) con

algunas modificaciones experimentales. Para ello se colocaron 2 g de una muestra representativa del producto molido (por cuadruplicado) en recipientes metálicos codificados con tapa previamente tarados y registrados. Los recipientes destapados se colocaron en una estufa con circulación de aire forzado a 103 °C durante 3 hs (Tabla A.2.). Luego del secado, se volvieron a registrar el peso del recipiente con muestra y se procedió a realizar el cálculo de humedad. Dicho cálculo se realizó en base seca utilizando la ecuación 1 presentada en el Capítulo I.

Tabla A.2. Tiempos de secado de expeller de soja establecidos para futuras determinaciones de acuerdo al estado de la muestra realizado a 103 °C en una estufa con circulación de aire forzado

Cantidad de muestra	Estado de la muestra	Tiempo de secado	Observaciones
10g	molido	3 horas	
2g	molido	3 horas	
10g	Sin moler	72 horas	
15g	Sin moler	72 horas	Las primeras muestras se analizaron de esta manera, hasta la realización de las curvas.

2.4. Determinación del CHE del expeller de soja a través de exponer la muestra a 70% de HR a diferentes temperaturas

De manera similar a la descripta en el punto anterior, se colocaron 10 g de las muestras de expeller con dos contenidos de aceite residual diferentes (por triplicado) en tres *tuppers* con una solución de glicerol a la concentración necesaria para alcanzar una HR de 70% y se colocaron sensores de HR y temperatura (Ibutton, EEUU). Cada uno de los *tuppers* fue asignado al azar a cámaras con diferente temperatura (5, 15 y 25 °C). Las muestras fueron almacenadas durante 5, 14 y 21 días a 25, 15 y 5 °C, respectivamente en función de los resultados obtenidos en la etapa anterior. Luego del tiempo de estabilización a cada temperatura se midió el contenido de humedad de las muestras de expeller por el método de estufa descripto en la sección 2.3. del presente Anexo.

2.5. Determinación del CHE del expeller de soja a través del acondicionamiento de la muestra a humedades específicas

La metodología alternativa para determinar el CHE implica el acondicionamiento previo de las muestras de expeller hasta un contenido de humedad específico, almacenarlo en un recipiente herméticamente cerrado y medirla HRE luego de un determinado tiempo de estabilización, de acuerdo a la metodología detallada en Bartosik y Maier (2007). En breve, las muestras de expeller con diferente contenido de aceite residual se acondicionaron hasta el nivel de humedad que fue determinado en la etapa anterior (contenido de humedad que se encuentra en equilibrio con una HR de 70%). Para ello primeramente se determinó la humedad inicial de las muestras y posteriormente estas fueron secadas (con aire natural, a temperatura ambiente) o rehumedecidas (agregando agua destilada), según fuera necesario, con la finalidad de alcanzar la humedad final deseada. Una vez acondicionadas, las muestras fueron almacenadas en heladera (4 °C) en doble bolsa hermética durante dos semanas, con la finalidad de que la humedad de la muestra esté completamente estabilizada.

La muestra de expeller acondicionada para cada nivel de aceite residual se colocó en un frasco de vidrio con cierre hermético de (230 ml), junto con un sensor de HR y temperatura (Ibutton, EEUU). Los frascos cerrados fueron colocados en tres cámaras a las mismas temperaturas evaluadas anteriormente (5, 15 y 25 °C) durante una semana. De esta manera se determinó la HRE alcanzada por el aire que rodea la muestra dentro de cada frasco.

3. Resultados

3.1. Determinación del tiempo de estabilización del expeller de soja a 25 °C

Las muestras utilizadas para determinar el tiempo de estabilización del expeller de soja fueron la E-011 y la E-013, categorizadas como bajo y alto contenido de aceite, ya que sus contenidos de aceite determinados por NIRS fueron 9,8 y 15,4% (b.s.), respectivamente. Al analizar los resultados obtenidos en esta instancia preliminar se observó que la muestra con bajo contenido de aceite a

25 °C se estabilizó rápidamente, debido a que su humedad inicial (a tiempo de estabilización 0), se encontraba cerca del valor de humedad que se encuentra en equilibrio con una HR del espacio que la rodea del 70%, como se muestra en la Figura A.1. El CHE que finalmente alcanzó la muestra con bajo contenido de aceite fue en promedio 13,8% (b.s.). Por otro lado, la muestra con alto contenido de aceite, inicialmente tenía una humedad baja (7,6% b.s.) y al exponerse a una HR de 70%, ganó una importante cantidad de humedad, producto de la adsorción de la humedad del ambiente que la rodeaba. Para la temperatura evaluada (25 °C) la muestra de expeller con alto contenido de aceite logró alcanzar el equilibrio luego de 72-96 hs (Figura A.1.) y el CHE alcanzado en promedio fue 11,3% (b.s.).

Si bien ambas muestras alcanzaron el equilibrio luego de 96 hs (4 días), con la finalidad de asegurar que se alcance el equilibrio en experimentos posteriores se decidió establecer 120 hs, es decir 5 días, como tiempo óptimo para realizar la estabilización a una temperatura de 25 °C.

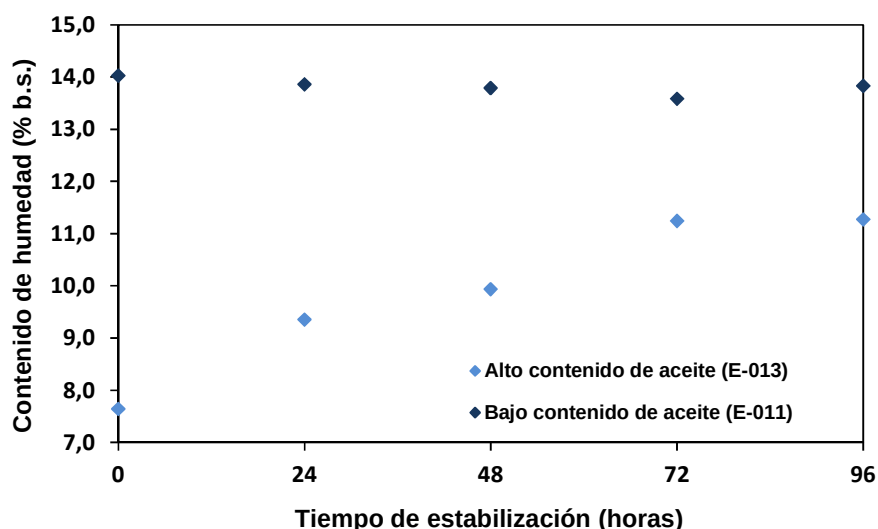


Figura A.1. Determinación del tiempo de estabilización de la humedad del expeller de soja con alto y bajo contenido de aceite para 25 °C y 70% de humedad relativa

3.2. Determinación del CHE del expeller de soja a 70% de HR a diferentes temperaturas

Para determinar el CHE del expeller de soja a diferentes temperaturas, se establecieron previamente los tiempos de estabilización necesarios para cada

una de las temperaturas de estudio en función de los resultados obtenidos en el punto anterior. Partiendo como base que el expeller tardaría 5 días para estabilizarse y asegurar que se alcance el equilibrio, los tiempos de estabilización a evaluar fueron 5, 14 y 21 días para 25, 15 y 5 °C, respectivamente.

Como se puede ver en la Figura A.2-A, para el expeller con el menor contenido de aceite residual (9,8% b.s.) se alcanzó el equilibrio a todas la temperaturas evaluadas y los tiempos de estabilización por lo tanto fueron adecuados. Sin embargo, la Figura A.2-B muestra que para el mayor contenido de aceite (15,4% b.s.) el tiempo asignado para alcanzar la estabilización a una temperatura de 5 °C no fue suficiente, y por lo tanto la muestra no logró alcanzar el equilibrio. A partir de estos resultados se tomó la decisión de establecer para ensayos posteriores, un tiempo de estabilización de 4 semanas (28 días) para una temperatura de 5 °C, con la finalidad de asegurar que en todos los casos (sin tener en cuenta el contenido de aceite que presente la muestra) el equilibrio pueda ser alcanzado.

De manera similar a los resultados obtenidos en la sección anterior, el CHE alcanzado por las muestras fue diferente según el nivel de aceite que presentó en su composición. En tal sentido, el CHE de la muestra de expeller de soja con el nivel de aceite más alto fue en promedio 11,3% (b.s.), mientras que para el nivel bajo de aceite fue en promedio 13,8% (b.s.).

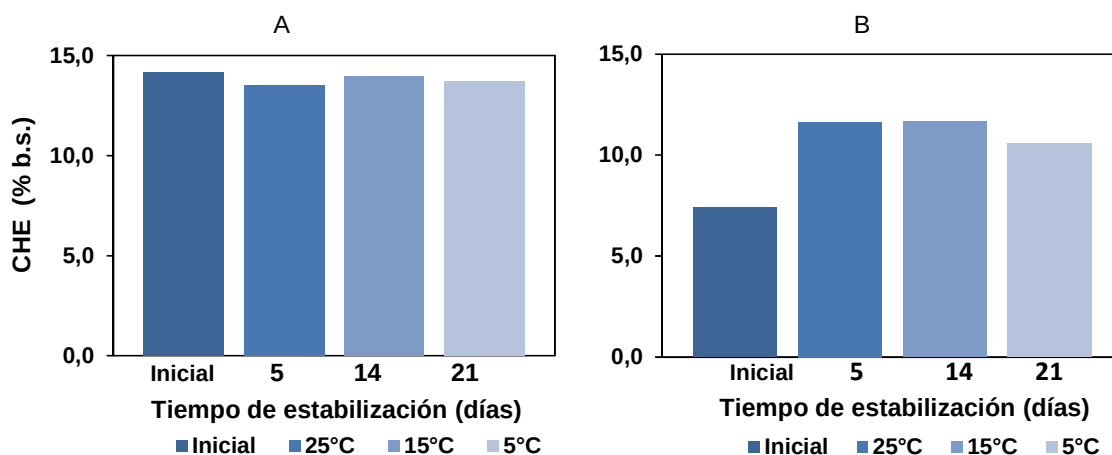


Figura A.2. Contenido de humedad de equilibrio (CHE) alcanzado por las muestras de expeller de soja con bajo (A) y alto (B) contenido de aceite luego de 5, 14 y 21 días de estabilización a 70% de HR para 25, 15 y 5 °C. Inicial, indica el contenido de humedad inicial de las muestras de expeller de soja

3.3. Comparación de metodologías para determinación de isothermas de sorción

Como se explicó previamente, las muestras de expeller de soja fueron acondicionadas al valor de humedad que se encuentra en equilibrio, determinado en las secciones anteriores para cada nivel de aceite, con una HR del 70%. Estos valores de CHE a las que se intentaron acondicionar las muestras de expeller fueron 11,3 y 13,8% (b.s.) para muestras con alto y bajo nivel de aceite, respectivamente. Las muestras acondicionadas se colocaron en frascos con sensores con los cuáles se registró la HRE que alcanzó el aire dentro del frasco durante una semana. Los valores promedio de HRE registrados por los sensores para los 7 días de almacenamiento, para cada uno de los tratamientos evaluados, se muestran en la Tabla A.2. Estos resultados muestran que en varias ocasiones no se logró una HRE de 70%. En promedio, los CHE alcanzados fueron 11,6 y 13,3% (b.s.) para alto y bajo nivel de aceite, respectivamente. Además se puede ver que al analizar las tres repeticiones realizadas (una por cada corrida de cámara) no se alcanzaron los mismos niveles de HRE para una condición similar (temperatura programada y contenido de aceite). Por lo tanto, esta metodología da lugar a dudas respecto de su confiabilidad, en particular cuando se desea conocer la relación de equilibrio entre el CHE/HRE en materiales con diferentes niveles de aceite.

Tabla A.3. Humedad relativa de equilibrio promedio medida para muestras de expeller con diferente contenido de aceite para diferentes temperaturas

C	L	CAe (% b.s.)	T programada (°C)	Sensor	CH _i (% b.s.)	CH _f (% b.s.)	T medida (°C)	HRE medida (%)
1	a	9,8	15	1	13,2	13,2 ± 0,37	15,1	71,0 ± 0,44
1	f	15,4	5	2	11,9	12,4 ± 0,63	5,4	69,8 ± 0,42
1	b	9,8	5	3	13,2	13,2 ± 0,37	5,7	66,6 ± 0,42
1	d	9,8	25	4	13,2	13,4 ± 0,37	24,6	70,0 ± 0,92
1	e	15,4	25	5	11,9	11,9 ± 0,36	24,1	70,4 ± 1,03
1	c	15,4	15	6	11,9	11,9 ± 0,36	15,1	70,2 ± 0,45
2	f	15,4	5	1	11,9	11,5 ± 0,36	5,6	67,2 ± 0,67
2	b	9,8	5	2	13,2	12,8 ± 0,37	5,5	70,1 ± 0,44
2	e	15,4	25	3	11,9	11,1 ± 0,00	24,6	68,4 ± 0,71
2	c	15,4	15	4	11,9	10,9 ± 0,35	15,2	70,7 ± 0,34
2	d	9,8	25	5	13,2	13,0 ± 0,00	24,2	71,9 ± 0,63
2	a	9,8	15	6	13,2	12,8 ± 0,37	15,1	71,8 ± 0,38
3	f	15,4	5	1	11,9	11,9 ± 0,36	5,6	68,0 ± 0,69
3	b	9,8	5	2	13,2	13,4 ± 0,37	5,6	69,2 ± 0,58
3	d	9,8	25	3	13,2	13,9 ± 0,37	24,6	70,8 ± 0,72
3	c	15,4	15	4	11,9	11,9 ± 0,36	15,6	69,7 ± 0,41
3	a	9,8	15	5	13,2	14,1 ± 0,37	15,1	73,0 ± 0,58
3	e	15,4	25	6	11,9	11,1 ± 0,00	24,2	68,1 ± 0,69

Nota: C es la corrida de cámara, L es la letra asignada al tratamiento, CAe es el contenido de aceite del expeller de soja, T es la temperatura, CH_i y CH_f son el contenido de humedad inicial y final, respectivamente, y la HRE es la humedad relativa de equilibrio. Se muestran los valores promedio de tres repeticiones seguidos de ± el desvío estándar para el CH_f y HRE

Una vez evaluadas las relaciones de CHE/HRE para el expeller de soja con diferente contenido de aceite, se compararon los resultados promedio obtenidos para cada metodología como se muestra en la Tabla A.3. Los resultados fueron similares para ambos casos, sin embargo, al acondicionar las muestras, el procedimiento en este caso fue realizado con poca cantidad de muestra, pero se observó cierta dificultad para alcanzar las humedades deseadas. Se llevaron a cabo varios procedimientos de rehumedecimiento (con agregado de agua destilada por aspersión) hasta poder alcanzar las humedades.

Tabla A.4. Contenido de humedad de equilibrio (CHE) y humedad relativa de equilibrio (HRE) obtenidas por dos metodologías diferentes

Muestra	CAe (%)	T programada (°C)	CHE (% b.s.) ^{*1}	HRE (%) ^{*1}	CHE (% b.s.) ^{*2}	HRE (%) ^{*2}
E-011	9,8	5	13,7 ± 0,28	72,9 ± 3,10	13,1 ± 0,33	68,6 ± 1,82
		15	14,0 ± 0,19	73,6 ± 1,17	13,4 ± 0,66	71,9 ± 1,02
		25	13,5 ± 0,09	71,4 ± 1,09	13,4 ± 0,43	70,9 ± 0,97
E-013	15,4	5	10,6 ± 0,45	69,6 ± 1,63	11,9 ± 0,42	68,3 ± 1,32
		15	11,7 ± 0,07	72,1 ± 0,44	11,6 ± 0,60	70,2 ± 0,50
		25	11,6 ± 0,06	70,9 ± 0,67	11,4 ± 0,48	68,9 ± 1,28

Nota: CAe es el contenido de aceite del expeller de soja, T es la temperatura seteada, CHE es el contenido de humedad de equilibrio, HRE es la humedad relativa de equilibrio, (^{*1}) indica que la metodología fue realizada con soluciones de glicerol y (^{*2}) indica que la metodología fue acondicionando las muestras a la humedad deseada. Los valores presentados son el promedio de tres repeticiones ± el desvío estándar

4. Conclusiones

Se estableció que el tiempo adecuado para realizar la estabilización de una muestra de expeller de soja a una determinada HRE fue de 5 días para una temperatura de 25 °C

Se determinó que por practicidad y confiabilidad la metodología que utiliza soluciones de glicerol para equilibrar el contenido de humedad del material a HR específicas resultó la más adecuada para determinar las isotermas de sorción.

ANEXO VII. Evolución de la concentración de gases (O₂ y CO₂) para el expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm	Día	Concentración de O ₂ (%)	Concentración de CO ₂ (%)
Con	Inicial	6,4	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
	1		7	21,1 ± 0,57	0,1 ± 0,07	
			14	20,8 ± 0,21	0,1 ± 0,06	
			21	20,7 ± 0,15	0,1 ± 0,06	
			28	20,7 ± 0,10	0,0 ± 0,00	
	2		35	20,6 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			42	20,6 ± 0,00	0,0 ± 0,00	
			49	20,5 ± 0,15	0,0 ± 0,00	
	56		20,5 ± 0,20	0,0 ± 0,00		
	3		70	20,5 ± 0,12	0,0 ± 0,06	
			84	20,6 ± 0,15	0,0 ± 0,00	
			98	20,7 ± 0,17	0,0 ± 0,00	
			112	20,8 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
	4		126	20,7 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			140	20,6 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			154	20,5 ± 0,21	0,0 ± 0,00	
			189	20,5 ± 0,10	0,0 ± 0,00	
Con	Inicial	9,9	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
	1		7	21,0 ± 0,78	0,1 ± 0,07	
			14	20,7 ± 0,20	0,1 ± 0,12	
			21	20,6 ± 0,25	0,0 ± 0,06	
			28	20,6 ± 0,21	0,1 ± 0,06	
	2		35	20,6 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			42	20,6 ± 0,00	0,0 ± 0,00	
			49	20,5 ± 0,10	0,0 ± 0,06	
			56	20,5 ± 0,21	0,0 ± 0,00	
	3		70	20,6 ± 0,10	0,0 ± 0,06	
			84	20,7 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			98	20,7 ± 0,17	0,0 ± 0,00	
			112	20,8 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
	4		126	20,8 ± 0,00	0,0 ± 0,00	
			140	20,7 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
			154	20,6 ± 0,20	0,0 ± 0,00	
			189	20,5 ± 0,06	0,0 ± 0,00	
Con	Inicial	13,6	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
	1		7	21,1 ± 0,71	0,1 ± 0,07	
			14	20,8 ± 0,20	0,2 ± 0,06	
			21	20,7 ± 0,21	0,1 ± 0,06	
			28	20,5 ± 0,15	0,1 ± 0,15	
	2		35	20,5 ± 0,10	0,0 ± 0,00	
			42	20,5 ± 0,00	0,1 ± 0,06	
			49	20,4 ± 0,12	0,1 ± 0,17	
			56	20,3 ± 0,26	0,1 ± 0,23	

Sin	No hermético	6,4	3	70	$20,0 \pm 1,13$	$0,6 \pm 1,04$
				84	$18,3 \pm 4,21$	$2,1 \pm 3,64$
				98	$17,1 \pm 6,32$	$3,1 \pm 5,31$
				112	$16,5 \pm 7,48$	$3,6 \pm 6,29$
			4	126	$15,2 \pm 9,61$	$4,1 \pm 7,10$
				140	$13,8 \pm 11,95$	$5,0 \pm 8,66$
				154	$15,8 \pm 8,00$	$3,6 \pm 6,18$
				189	$15,5 \pm 8,66$	$3,8 \pm 6,50$
			<u>Inicial</u>		0	$0,0 \pm 0,00$
			1	7	$20,9 \pm 0,64$	$0,0 \pm 0,00$
				14	$20,7 \pm 0,00$	$0,0 \pm 0,06$
				21	$20,7 \pm 0,31$	$0,0 \pm 0,06$
				28	$20,7 \pm 0,15$	$0,0 \pm 0,06$
			2	35	$20,6 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				42	$20,6 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				49	$20,5 \pm 0,12$	$0,0 \pm 0,00$
				56	$20,5 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,00$
Sin	No hermético	9,9	3	70	$20,5 \pm 0,26$	$0,0 \pm 0,06$
				84	$20,6 \pm 0,23$	$0,0 \pm 0,00$
				98	$20,7 \pm 0,25$	$0,0 \pm 0,00$
				112	$20,8 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
			4	126	$20,8 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				140	$20,7 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				154	$20,6 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,00$
				189	$20,4 \pm 0,27$	$0,0 \pm 0,00$
			<u>Inicial</u>		0	$0,0 \pm 0,00$
			1	7	$20,7 \pm 0,57$	$0,1 \pm 0,14$
				14	$20,7 \pm 0,06$	$0,1 \pm 0,12$
				21	$20,6 \pm 0,26$	$0,0 \pm 0,06$
				28	$20,6 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,06$
			2	35	$20,6 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				42	$20,5 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				49	$20,4 \pm 0,06$	$0,0 \pm 0,00$
				56	$20,5 \pm 0,31$	$0,0 \pm 0,00$
Sin	No hermético	13,6	3	70	$20,6 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,06$
				84	$20,6 \pm 0,10$	$0,0 \pm 0,00$
				98	$20,8 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,00$
				112	$20,8 \pm 0,10$	$0,0 \pm 0,00$
			4	126	$20,8 \pm 0,12$	$0,0 \pm 0,00$
				140	$20,7 \pm 0,00$	$0,0 \pm 0,00$
				154	$20,6 \pm 0,21$	$0,0 \pm 0,00$
				189	$20,6 \pm 0,10$	$0,0 \pm 0,00$
			<u>Inicial</u>		0	$0,0 \pm 0,00$
			1	7	$21,1 \pm 0,49$	$0,0 \pm 0,00$
				14	$20,8 \pm 0,12$	$0,1 \pm 0,06$
				21	$20,6 \pm 0,31$	$0,1 \pm 0,15$
				28	$20,5 \pm 0,26$	$0,2 \pm 0,29$
			2	35	$20,2 \pm 0,64$	$0,4 \pm 0,69$

			42	20,3 ± 0,67	0,7 ± 1,21			
			49	19,8 ± 1,23	0,0 ± 0,00			
			56	19,0 ± 2,60	1,4 ± 2,40			
			3	70	15,2 ± 8,62	3,8 ± 5,96		
				84	15,6 ± 7,25	3,8 ± 5,34		
				98	15,1 ± 7,65	4,3 ± 5,63		
				112	15,5 ± 5,51	4,4 ± 4,62		
			4	126	13,1 ± 6,81	5,7 ± 4,94		
				140	8,4 ± 10,75	9,6 ± 8,84		
				154	10,0 ± 9,79	8,5 ± 8,50		
				189	8,1 ± 10,92	9,6 ± 8,36		
Con	Inicial	6,4	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00		
	1		7	19,6 ± 0,49	0,1 ± 0,00			
			14	19,5 ± 0,68	0,1 ± 0,10			
			21	19,5 ± 0,62	0,1 ± 0,06			
			28	19,4 ± 0,59	0,1 ± 0,00			
			2	35	19,0 ± 0,15	0,1 ± 0,00		
	42			18,9 ± 0,31	0,0 ± 0,06			
	49			18,9 ± 0,30	0,1 ± 0,06			
	56			19,0 ± 0,25	0,1 ± 0,06			
	3		70	19,1 ± 0,44	0,1 ± 0,06			
			84	19,4 ± 0,15	0,0 ± 0,00			
			98	19,6 ± 0,42	0,0 ± 0,06			
			112	20,0 ± 0,49	0,0 ± 0,06			
	4		126	20,0 ± 0,06	0,0 ± 0,00			
			140	20,1 ± 0,17	0,0 ± 0,00			
			154	20,2 ± 0,42	0,0 ± 0,00			
			189	20,0 ± 0,10	0,1 ± 0,10			
	Con		Inicial	9,9	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
			1		7	19,3 ± 0,35	0,2 ± 0,07	
					14	19,3 ± 0,15	0,2 ± 0,06	
21		19,2 ± 0,17			0,1 ± 0,06			
28		19,1 ± 0,26			0,2 ± 0,06			
2		35			19,0 ± 0,15	0,1 ± 0,00		
		42	19,0 ± 0,12		0,1 ± 0,06			
		49	18,9 ± 0,06		0,1 ± 0,00			
		56	19,0 ± 0,35		0,1 ± 0,06			
3		70	19,2 ± 0,15		0,1 ± 0,00			
		84	19,5 ± 0,20		0,0 ± 0,06			
		98	19,7 ± 0,06		0,0 ± 0,06			
		112	19,9 ± 0,21		0,0 ± 0,06			
4		126	20,2 ± 0,38		0,0 ± 0,00			
		140	20,2 ± 0,26		0,0 ± 0,00			
		154	20,2 ± 0,15		0,1 ± 0,06			
		189	20,2 ± 0,25		0,0 ± 0,06			
Con		Inicial	13,6		0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
		1			7	19,3 ± 0,14	0,3 ± 0,07	
					14	19,1 ± 0,25	0,3 ± 0,15	

Sin	Hermético	6,4		21	19,1 ± 0,31	0,2 ± 0,00				
				28	18,9 ± 0,25	0,3 ± 0,12				
			2	35	18,6 ± 0,68	0,4 ± 0,44				
				42	17,1 ± 3,32	1,1 ± 1,59				
				49	14,5 ± 7,77	1,8 ± 2,95				
				56	13,0 ± 10,48	2,2 ± 3,41				
			3	70	13,2 ± 10,51	1,6 ± 2,66				
				84	13,2 ± 11,00	1,5 ± 2,57				
				98	13,4 ± 11,09	1,5 ± 2,54				
				112	13,6 ± 10,94	1,4 ± 2,48				
			4	126	15,5 ± 7,71	2,5 ± 4,13				
				140	17,5 ± 3,21	0,3 ± 0,46				
				154	18,3 ± 1,74	1,1 ± 1,01				
				189	14,0 ± 5,78	2,4 ± 1,76				
			Sin	Hermético	6,4	<u>Inicial</u>	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
						1	7	19,6 ± 0,42	0,1 ± 0,07	
							14	19,5 ± 0,21	0,1 ± 0,06	
21	19,4 ± 0,10	0,1 ± 0,06								
28	19,3 ± 0,12	0,1 ± 0,06								
2	35	19,3 ± 0,70				0,0 ± 0,06				
	42	19,2 ± 0,38				0,0 ± 0,06				
	49	19,0 ± 0,23				0,1 ± 0,00				
	56	19,3 ± 0,36				0,0 ± 0,06				
3	70	19,0 ± 0,31				0,0 ± 0,06				
	84	19,5 ± 0,25				0,0 ± 0,00				
	98	19,6 ± 0,12				0,0 ± 0,00				
	112	19,8 ± 0,26				0,0 ± 0,06				
4	126	19,8 ± 0,06				0,0 ± 0,06				
	140	19,8 ± 0,21				0,0 ± 0,00				
	154	19,8 ± 0,10				0,0 ± 0,06				
	189	20,0 ± 0,26				0,0 ± 0,00				
Sin	Hermético	9,9	<u>Inicial</u>	0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00			
			1	7	19,0 ± 0,57	0,2 ± 0,00				
				14	19,0 ± 0,35	0,2 ± 0,06				
				21	18,9 ± 0,21	0,2 ± 0,06				
				28	18,8 ± 0,40	0,2 ± 0,06				
			2	35	18,6 ± 0,21	0,1 ± 0,06				
				42	18,7 ± 0,17	0,1 ± 0,06				
				49	18,6 ± 0,21	0,1 ± 0,06				
				56	18,8 ± 0,44	0,1 ± 0,00				
			3	70	19,1 ± 0,26	0,1 ± 0,00				
				84	19,5 ± 0,32	0,0 ± 0,06				
				98	19,7 ± 0,10	0,0 ± 0,06				
				112	19,8 ± 0,25	0,1 ± 0,06				
			4	126	20,0 ± 0,12	0,0 ± 0,06				
				140	20,0 ± 0,06	0,0 ± 0,00				
				154	20,1 ± 0,31	0,0 ± 0,06				
				189	20,1 ± 0,31	0,1 ± 0,06				

Inicial			0	0	20,9 ± 0,00	0,0 ± 0,00
Sin	Hermético	13,6	1	7	19,1 ± 0,21	0,3 ± 0,07
				14	18,6 ± 0,59	0,4 ± 0,26
				21	18,4 ± 0,60	0,4 ± 0,30
				28	17,6 ± 1,74	0,7 ± 0,87
			2	35	14,7 ± 6,99	1,9 ± 2,97
				42	12,6 ± 10,68	2,2 ± 3,52
				49	12,7 ± 10,42	1,8 ± 2,92
				56	12,7 ± 10,48	1,8 ± 2,74
			3	70	12,9 ± 9,19	1,8 ± 2,27
				84	11,8 ± 8,02	2,1 ± 1,98
				98	9,2 ± 9,60	2,9 ± 2,52
				112	9,7 ± 9,04	2,5 ± 2,17
			4	126	9,1 ± 9,84	2,6 ± 2,29
				140	9,0 ± 10,06	2,8 ± 2,36
				154	10,0 ± 9,52	2,6 ± 2,39
				189	9,5 ± 10,05	2,7 ± 2,51

Nota: Alm es almacenamiento y t es tiempo. Se muestran los valores promedios obtenidos para los tres bloques ± el desvío estándar

ANEXO VIII: Evolución de los parámetros del color L*a*b* del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm	L*	a*	b*
Sin	Inicial	6,4	t0	75,3 ± 0,91	1,3 ± 0,55	26,3 ± 0,52
		9,9		74,7 ± 0,68	1,4 ± 0,65	26,5 ± 0,73
		13,6		74,5 ± 0,96	1,5 ± 0,67	27,4 ± 0,90
Con	Inicial	6,4	t0	75,0 ± 0,93	1,6 ± 0,62	27,1 ± 1,40
		9,9		75,0 ± 0,66	1,4 ± 0,27	27,2 ± 1,22
		13,6		73,4 ± 0,11	2,0 ± 0,37	28,3 ± 0,49
Sin	Hermético	6,4	t1	74,4 ± 0,51	1,7 ± 0,61	26,1 ± 0,43
		9,9		75,0 ± 0,39	1,6 ± 0,80	26,4 ± 0,45
		13,6		73,8 ± 1,25	2,0 ± 1,15	27,2 ± 0,18
Con	Hermético	6,4	t1	74,7 ± 0,79	1,9 ± 0,64	26,7 ± 1,28
		9,9		74,1 ± 0,58	2,1 ± 0,62	27,7 ± 0,93
		13,6		74,0 ± 0,38	2,0 ± 0,74	28,2 ± 0,41
Sin	No hermético	6,4	t1	75,1 ± 0,71	1,5 ± 0,77	26,0 ± 0,32
		9,9		74,5 ± 0,88	1,6 ± 0,80	26,8 ± 0,73
		13,6		73,5 ± 1,71	2,0 ± 0,91	27,7 ± 0,35
Con	No hermético	6,4	t1	75,4 ± 1,10	1,8 ± 0,58	27,9 ± 0,85
		9,9		74,2 ± 0,46	1,9 ± 0,53	26,9 ± 1,47
		13,6		74,5 ± 0,37	1,9 ± 0,75	27,6 ± 0,70
Sin	Hermético	6,4	t2	74,8 ± 0,95	1,6 ± 0,43	26,1 ± 1,13
		9,9		75,1 ± 0,62	1,4 ± 0,85	26,6 ± 0,37
		13,6		74,0 ± 1,33	1,8 ± 0,78	27,2 ± 1,55
Con	Hermético	6,4	t2	74,8 ± 0,90	1,8 ± 0,45	26,7 ± 1,09
		9,9		74,8 ± 0,39	1,6 ± 0,46	26,8 ± 1,10
		13,6		74,7 ± 0,38	1,7 ± 0,45	27,5 ± 0,96
Sin	No hermético	6,4	t2	75,3 ± 1,18	1,3 ± 0,66	25,9 ± 0,68
		9,9		75,2 ± 0,77	1,3 ± 0,77	26,1 ± 0,67
		13,6		74,0 ± 1,59	1,6 ± 0,62	27,1 ± 1,49
Con	No hermético	6,4	t2	74,7 ± 0,92	1,7 ± 0,58	26,8 ± 1,62
		9,9		74,8 ± 0,80	1,7 ± 0,38	26,8 ± 1,48
		13,6		74,2 ± 0,44	1,8 ± 0,42	27,6 ± 1,13
Sin	Hermético	6,4	t3	75,5 ± 1,62	0,7 ± 0,37	25,5 ± 0,83
		9,9		75,3 ± 0,53	0,7 ± 0,18	26,4 ± 0,75
		13,6		74,1 ± 1,39	1,2 ± 0,44	27,5 ± 1,17
Con	Hermético	6,4	t3	75,2 ± 0,80	1,0 ± 0,51	26,5 ± 1,05
		9,9		75,6 ± 0,63	0,9 ± 0,26	26,6 ± 0,51
		13,6		74,5 ± 0,56	1,3 ± 0,45	27,7 ± 0,62
Sin	No hermético	6,4	t3	75,8 ± 0,45	0,8 ± 0,11	26,0 ± 0,78
		9,9		75,9 ± 0,75	0,7 ± 0,24	25,9 ± 0,39
		13,6		74,9 ± 1,67	0,9 ± 0,30	26,6 ± 0,79
Con	No hermético	6,4	t3	75,3 ± 1,31	1,0 ± 0,46	26,6 ± 0,52
		9,9		75,4 ± 1,08	1,0 ± 0,52	26,6 ± 0,43
		13,6		74,9 ± 0,86	1,1 ± 0,42	24,0 ± 6,80

Sin	Hermético	6,4	t4	75,4 ± 0,93	0,6 ± 0,32	25,5 ± 0,17
		9,9		74,7 ± 0,95	0,6 ± 0,43	26,2 ± 0,95
		13,6		73,9 ± 1,84	1,1 ± 0,69	27,6 ± 1,35
Con	Hermético	6,4		74,8 ± 0,72	0,8 ± 0,37	26,6 ± 0,89
		9,9		75,4 ± 0,64	0,6 ± 0,42	26,8 ± 1,12
		13,6		74,4 ± 0,83	1,0 ± 0,31	27,9 ± 0,79
Sin	No hermético	6,4		75,7 ± 0,83	0,5 ± 0,23	25,3 ± 0,73
		9,9		75,6 ± 0,57	0,6 ± 0,22	26,2 ± 0,37
		13,6		73,8 ± 2,34	0,8 ± 0,48	27,1 ± 1,01
Con	No hermético	6,4		75,4 ± 0,99	0,9 ± 0,49	27,1 ± 1,64
		9,9		75,7 ± 1,28	0,8 ± 0,48	26,9 ± 1,02
		13,6		74,5 ± 1,20	0,7 ± 0,36	27,7 ± 0,69

Nota: Alm es almacenamiento, CH es contenido de humedad y t es tiempo. Se muestran los valores promedios obtenidos para los tres bloques ± el desvío estándar

ANEXO IX. Evolución de la composición del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm.	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm.	CHe (% b.s.)	CAe (% b.s.)	CPe (% b.s.)	Ceniza (% b.s.)	Fibra (% b.s.)
Sin	Inicial	6,4	t0	6,7 ± 1,13	8,0 ± 0,08	41,9 ± 1,22	5,8 ± 0,27	6,2 ± 0,74
		9,9		9,2 ± 1,90	8,5 ± 0,43	40,8 ± 1,28	5,4 ± 0,30	6,1 ± 0,45
		13,6		11,5 ± 2,20	8,0 ± 0,40	40,2 ± 1,62	5,4 ± 0,32	5,8 ± 0,69
Con		6,4		7,7 ± 0,14	9,1 ± 0,97	41,0 ± 1,58	5,6 ± 0,22	6,1 ± 0,62
		9,9		9,2 ± 1,01	8,7 ± 0,80	40,7 ± 1,39	5,4 ± 0,28	5,9 ± 0,55
		13,6		11,6 ± 1,43	8,6 ± 0,53	39,9 ± 1,42	5,3 ± 0,25	5,8 ± 0,50
Sin	Hermético	6,4	t1	6,7 ± 1,21	8,2 ± 0,44	41,6 ± 1,20	5,8 ± 0,28	6,4 ± 0,43
		9,9		9,1 ± 1,53	8,1 ± 0,39	40,7 ± 0,89	5,5 ± 0,19	6,0 ± 0,65
		13,6		11,5 ± 2,00	7,9 ± 1,05	40,0 ± 0,93	5,4 ± 0,23	5,9 ± 0,79
Con		6,4		7,3 ± 0,20	8,6 ± 0,56	41,0 ± 0,98	5,6 ± 0,15	6,2 ± 0,83
		9,9		9,1 ± 1,13	8,4 ± 0,55	40,7 ± 0,93	5,5 ± 0,19	5,9 ± 0,80
		13,6		11,2 ± 1,64	8,3 ± 0,57	40,0 ± 0,87	5,3 ± 0,18	5,8 ± 0,63
Sin	No hermético	6,4	t1	6,4 ± 0,87	8,0 ± 0,40	42,5 ± 1,20	5,9 ± 0,23	5,8 ± 0,67
		9,9		8,8 ± 1,35	8,2 ± 0,57	41,4 ± 0,99	5,6 ± 0,16	5,7 ± 0,91
		13,6		11,3 ± 1,59	7,5 ± 0,87	40,6 ± 0,63	5,5 ± 0,21	5,6 ± 0,62
Con		6,4		7,5 ± 0,15	8,9 ± 0,79	41,6 ± 1,35	5,7 ± 0,21	5,7 ± 0,81
		9,9		8,9 ± 0,74	8,6 ± 0,52	41,3 ± 1,07	5,6 ± 0,19	5,4 ± 0,86
		13,6		10,8 ± 0,96	8,3 ± 0,69	40,7 ± 0,92	5,5 ± 0,21	5,2 ± 0,87
Sin	Hermético	6,4	t2	6,3 ± 0,98	7,8 ± 0,22	41,5 ± 0,74	5,8 ± 0,06	6,5 ± 0,60
		9,9		8,7 ± 1,47	8,1 ± 0,80	40,5 ± 1,11	5,5 ± 0,20	6,1 ± 0,81
		13,6		10,9 ± 2,11	7,6 ± 0,92	40,0 ± 0,84	5,4 ± 0,22	5,9 ± 0,61
Con		6,4		7,1 ± 0,34	8,7 ± 0,59	40,9 ± 1,42	5,6 ± 0,23	6,1 ± 0,63
		9,9		8,8 ± 0,81	8,5 ± 1,27	40,3 ± 1,29	5,4 ± 0,15	6,0 ± 0,72
		13,6		10,6 ± 1,08	8,0 ± 0,53	39,9 ± 0,84	5,3 ± 0,24	5,8 ± 0,71
Sin	No hermético	6,4	t2	6,4 ± 0,60	8,0 ± 0,35	41,7 ± 1,16	5,8 ± 0,17	6,3 ± 0,76
		9,9		8,8 ± 1,69	7,9 ± 0,89	40,7 ± 1,18	5,5 ± 0,21	6,1 ± 0,95
		13,6		10,9 ± 2,31	7,8 ± 0,37	39,9 ± 0,68	5,4 ± 0,19	5,9 ± 0,52
Con		6,4		7,2 ± 0,51	8,9 ± 1,01	40,7 ± 1,49	5,6 ± 0,17	6,2 ± 0,71
		9,9		8,6 ± 0,69	8,4 ± 0,66	40,6 ± 1,10	5,5 ± 0,23	5,9 ± 0,89
		13,6		10,5 ± 0,91	8,1 ± 1,08	39,8 ± 1,18	5,4 ± 0,31	5,8 ± 0,93
Sin	Hermético	6,4	t3	6,5 ± 1,12	8,4 ± 0,39	41,3 ± 1,07	5,6 ± 0,15	6,2 ± 0,55
		9,9		8,1 ± 1,78	8,1 ± 0,13	40,8 ± 0,99	5,5 ± 0,26	5,9 ± 0,72
		13,6		10,9 ± 1,47	7,5 ± 0,36	39,9 ± 0,95	5,4 ± 0,21	5,7 ± 0,55
Con		6,4		7,1 ± 0,10	8,9 ± 0,82	41,0 ± 1,49	5,5 ± 0,25	5,9 ± 0,53
		9,9		8,5 ± 0,58	8,4 ± 0,50	40,6 ± 1,05	5,5 ± 0,22	5,8 ± 0,78
		13,6		10,2 ± 0,92	8,1 ± 0,42	39,9 ± 1,03	5,4 ± 0,26	5,7 ± 0,76
Sin	No hermético	6,4	t3	6,2 ± 0,87	7,8 ± 0,29	41,8 ± 0,99	5,8 ± 0,12	6,1 ± 0,67
		9,9		8,5 ± 1,53	7,9 ± 0,79	40,9 ± 1,27	5,5 ± 0,20	5,8 ± 0,90
		13,6		10,8 ± 1,84	7,6 ± 0,27	40,2 ± 1,13	5,4 ± 0,21	5,7 ± 0,62
Con		6,4		7,0 ± 0,16	8,5 ± 0,84	41,3 ± 1,55	5,6 ± 0,28	5,8 ± 0,74

		9,9		8,4 ± 0,62	8,3 ± 0,68	40,7 ± 1,19	5,4 ± 0,24	5,8 ± 0,95
		13,6		10,2 ± 1,27	8,2 ± 1,01	40,2 ± 1,50	5,4 ± 0,26	5,5 ± 0,77
Sin	Hermético	6,4		6,3 ± 0,83	8,3 ± 0,22	41,6 ± 1,27	5,7 ± 0,32	6,1 ± 0,44
		9,9		8,9 ± 1,54	8,2 ± 0,51	40,7 ± 1,23	5,4 ± 0,24	5,9 ± 0,89
		13,6		11,7 ± 2,74	7,6 ± 1,49	40,1 ± 1,15	5,4 ± 0,23	5,6 ± 0,88
		6,4		7,2 ± 0,21	9,1 ± 0,54	40,7 ± 0,71	5,5 ± 0,11	6,0 ± 0,62
Con	Hermético	9,9		8,8 ± 0,76	8,6 ± 0,43	40,7 ± 0,87	5,4 ± 0,19	5,7 ± 0,55
		13,6		10,7 ± 1,21	8,3 ± 0,34	40,0 ± 1,06	5,3 ± 0,18	5,6 ± 0,61
		6,4	t4	6,3 ± 0,82	7,9 ± 0,11	41,9 ± 1,45	5,8 ± 0,30	6,0 ± 0,64
		9,9		8,6 ± 1,41	8,1 ± 0,54	41,0 ± 1,15	5,5 ± 0,24	5,8 ± 0,79
Sin	No hermético	13,6		11,4 ± 2,29	7,6 ± 1,12	40,3 ± 0,43	5,4 ± 0,17	5,9 ± 0,37
		6,4		7,3 ± 0,29	8,7 ± 0,73	41,1 ± 0,69	5,6 ± 0,13	5,9 ± 0,63
		9,9		8,4 ± 0,49	8,4 ± 0,41	40,9 ± 0,95	5,5 ± 0,17	5,7 ± 0,75
		13,6		10,9 ± 1,59	8,2 ± 0,71	40,3 ± 0,75	5,3 ± 0,18	5,7 ± 0,95

Nota: Alm es almacenamiento, CH es contenido de humedad, t es tiempo, CHe es el contenido de humedad, CAe es el contenido de aceite y CPe es el contenido de proteínas del expeller. Se muestran los valores promedios obtenidos para los tres bloques ± el desvío estándar

ANEXO X: Determinaciones de la acidez del expeller de soja antes y después de ser almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm	Acidez (mg de KOH/g aceite)
Sin	Inicial	6,4	t0	3,7 ± 0,29
		9,9		3,9 ± 0,70
		13,6		4,0 ± 0,50
Con	Inicial	6,4	t0	3,6 ± 0,37
		9,9		3,4 ± 0,16
		13,6		3,8 ± 0,34
Sin	Hermético	6,4	t4	4,5 ± 0,39
		9,9		4,8 ± 0,51
		13,6		8,8 ± 2,64
Con	Hermético	6,4	t4	3,8 ± 1,11
		9,9		4,7 ± 0,83
		13,6		7,7 ± 2,96
Sin	No hermético	6,4	t4	4,3 ± 0,37
		9,9		4,5 ± 0,19
		13,6		37,9 ± 32,55
Con	No hermético	6,4	t4	4,5 ± 0,36
		9,9		4,7 ± 0,88
		13,6		13,3 ± 12,56

Nota: Alm es almacenamiento, CH es contenido de humedad y t es tiempo. Se muestran los valores promedios obtenidos para los tres bloques ± el desvío estándar

ANEXO XI: Evolución de recuentos de unidades formadoras de colonias transformados del expeller de soja almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm	Log10 UFC/g de MS
Sin	Inicial	6,4	t0	0,7 ± 0,66
		9,9		0,8 ± 0,22
		13,6		0,9 ± 0,40
Con	Inicial	6,4	t0	0,5 ± 0,46
		9,9		0,5 ± 0,34
		13,6		0,6 ± 0,51
Sin	Hermético	6,4	t1	0,7 ± 0,20
		9,9		0,3 ± 0,20
		13,6		0,4 ± 0,39
Con	Hermético	6,4		0,3 ± 0,52
		9,9		0,3 ± 0,34
		13,6		0,2 ± 0,30
Sin	No hermético	6,4		0,5 ± 0,18
		9,9		0,5 ± 0,24
		13,6		0,5 ± 0,36
Con	No hermético	6,4		0,5 ± 0,62
		9,9		0,3 ± 0,42
		13,6		0,4 ± 0,34
Sin	Hermético	6,4	t2	0,5 ± 0,38
		9,9		0,6 ± 0,61
		13,6		0,7 ± 0,69
Con	Hermético	6,4		0,3 ± 0,38
		9,9		0,3 ± 0,32
		13,6		0,6 ± 0,61
Sin	No hermético	6,4		0,3 ± 0,07
		9,9		0,3 ± 0,39
		13,6		1,0 ± 1,00
Con	No hermético	6,4		0,3 ± 0,28
		9,9		0,3 ± 0,34
		13,6		0,8 ± 0,81
Sin	Hermético	6,4	t3	0,4 ± 0,09
		9,9		0,3 ± 0,36
		13,6		0,5 ± 0,63
Con	Hermético	6,4		0,3 ± 0,13
		9,9		0,2 ± 0,14
		13,6		0,3 ± 0,28
Sin	No hermético	6,4		0,3 ± 0,29
		9,9		0,3 ± 0,23
		13,6		0,9 ± 0,79
Con	No hermético	6,4		0,3 ± 0,22
		9,9		0,2 ± 0,18

		13,6		1,0 ± 1,44
		6,4		0,4 ± 0,24
Sin		9,9		0,5 ± 0,75
	Hermético	13,6		1,4 ± 0,79
		6,4		0,6 ± 0,40
Con		9,9		0,2 ± 0,22
		13,6		1,8 ± 0,97
		6,4	t4	0,2 ± 0,14
Sin		9,9		0,2 ± 0,20
	No hermético	13,6		1,9 ± 1,00
		6,4		0,2 ± 0,22
Con		9,9		0,3 ± 0,32
		13,6		1,0 ± 1,52

Nota: Alm es almacenamiento, CH es contenido de humedad, t es tiempo y Log10 UFC/g de MS es el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por gramo de materia seca. Se muestran los valores promedios obtenidos para los tres bloques ± el desvío estándar

ANEXO XII. Micotoxinas detectadas en el expeller de soja antes y después de ser almacenado bajo diferentes condiciones

Gomas	Tipo de Alm	CH de Alm (% b.s.)	t de Alm		DON	FB ₁	FB ₂
Sin	Inicial	9,9	t0	Promedio (µg/kg)	316,8	125,7	89,2
				SD	325,24	87,94	60,71
				Frecuencia (%)	100,0	66,7	66,7
		13,6		Promedio (µg/kg)	219,0	84,3	61,2
				SD	0,00	12,17	6,88
				Frecuencia (%)	33,3	66,7	66,7
		9,9		Promedio (µg/kg)	218,0	63,5	47,9
				SD	88,77	23,67	18,56
				Frecuencia (%)	66,7	66,7	66,7
13,6	Promedio (µg/kg)	442,4	76,3	53,4			
	SD	131,83	30,44	22,94			
	Frecuencia (%)	100,0	66,7	66,7			
Sin	Hermético	9,9	t4	Promedio (µg/kg)	168,5	76,3	59,3
				SD	64,42	5,90	5,48
				Frecuencia (%)	100,0	66,7	66,7
		13,6		Promedio (µg/kg)	256,6	70,1	53,3
				SD	0,00	30,63	25,51
				Frecuencia (%)	33,3	66,7	66,7
		9,9		Promedio (µg/kg)	402,6	71,0	53,6
				SD	345,19	48,50	33,72
				Frecuencia (%)	100,0	100,0	100,0
13,6	Promedio (µg/kg)	290,7	23,5	16,9			
	SD	0,00	0,00	0,00			
	Frecuencia (%)	33,3	33,3	33,3			
Sin	No hermético	9,9	t4	Promedio (µg/kg)	270,8	83,0	62,4
				SD	168,27	30,30	20,50
				Frecuencia (%)	100,0	66,7	66,7
		13,6		Promedio (µg/kg)	333,2	85,4	57,9
				SD	224,26	0,00	0,00
				Frecuencia (%)	100,0	33,3	33,3
		9,9		Promedio (µg/kg)	252,4	88,9	66,9
				SD	54,25	13,92	13,30
				Frecuencia (%)	66,7	100,0	100,0
13,6	Promedio (µg/kg)	486,9	66,2	49,5			
	SD	226,26	32,65	27,13			
	Frecuencia (%)	66,7	66,7	66,7			

Nota: SD es el desvío estándar, DON es Deoxinivalenol y FB₁ y FB₂ son las fumonisinas B₁ y B₂. Se muestran los valores promedios

ANEXO XIII. Unidades formadoras de colonias promedio del ensayo de almacenabilidad del expeller de soja con diferente contenido de aceite residual y diferentes condiciones de CHE/HRE a 20 °C

CAe (%)	HRE (%)	CHE (% b.s.)	UFC/g de MS
6,23	70	11,3	1,1
	75	13,2	4,0
	80	15,2	0,0
9,6	70	10,3	4,2
	75	12,5	5,1
	80	14,2	0,6
15,34	70	11,7	5,4
	75	13,3	9,2
	80	15,0	1,8

Nota: CAe es el contenido de aceite del expeller de soja, HRE es la humedad relativa de equilibrio, CHE es el contenido de humedad de equilibrio y UFC/g de MS son los recuentos de unidades formadoras de colonias por gramo de materia seca. Se presentan los valores promedios

Anexo XIV: Relaciones de humedad (MR) obtenidas a los diferentes tiempos de registro de pérdida de peso para las 5 temperaturas evaluadas en el secado a escala laboratorio

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de secado (min)	MR		
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
90	0	1	1	1
	10	0,8971	0,8687	0,8851
	20	0,8019	0,7784	0,7987
	30	0,7291	0,7058	0,7201
	40	0,6664	0,6440	0,6515
	50	0,6091	0,5900	0,5990
	60	0,5650	0,5467	0,5528
	70	0,5248	0,5050	0,5096
	80	0,4884	0,4649	0,4741
	90	0,4474	0,4332	0,4440
	100	0,4203	0,4031	0,4140
70	0	1	1	1
	10	0,9032	0,9001	0,9041
	20	0,8398	0,8335	0,8384
	30	0,7879	0,7816	0,7866
	40	0,7407	0,7414	0,7463
	50	0,7089	0,7065	0,7077
	60	0,6764	0,6786	0,6736
	70	0,6486	0,6453	0,6481
	80	0,6215	0,6182	0,6218
	90	0,5959	0,5965	0,5971
	100	0,5735	0,5764	0,5747
	110	0,5471	0,5563	0,5546
	120	0,5332	0,5323	0,5360
55	0	1	1	1
	10	0,9274	0,9212	0,9358
	20	0,8795	0,8710	0,8809
	30	0,8378	0,8285	0,8415
	40	0,7991	0,8023	0,8083
	50	0,7822	0,7814	0,7843
	60	0,7590	0,7529	0,7611
	70	0,7381	0,7382	0,7402
	80	0,7157	0,7119	0,7217
	90	0,7026	0,7011	0,7031
	100	0,6856	0,6826	0,6853
	110	0,6663	0,6671	0,6753
	120	0,6531	0,6548	0,6590
	130	0,6392	0,6432	0,6451
	140	0,6277	0,6262	0,6335

	150	0,6153	0,6154	0,6212
	160	0,6068	0,6046	0,6103
	170	0,5859	0,5992	0,5995
	0	1	1	1
	15	0,9227	0,9142	0,9282
	30	0,8802	0,8685	0,8780
	45	0,8508	0,8415	0,8478
	60	0,8245	0,8167	0,8262
	75	0,8036	0,7951	0,8015
	90	0,7851	0,7734	0,7837
	105	0,7665	0,7572	0,7660
	120	0,7526	0,7433	0,7521
	135	0,7387	0,7309	0,7343
	150	0,7240	0,7147	0,7250
	165	0,7101	0,7007	0,7088
40	180	0,7008	0,6892	0,6972
	195	0,6885	0,6768	0,6849
	210	0,6784	0,6698	0,6725
	225	0,6684	0,6598	0,6648
	240	0,6583	0,6497	0,6547
	255	0,6459	0,6373	0,6462
	270	0,6351	0,6304	0,6354
	285	0,6289	0,6234	0,6262
	300	0,6212	0,6141	0,6169
	315	0,6111	0,6049	0,6084
	330	0,6057	0,5964	0,6007
	345	0,5972	0,5886	0,5945
	360	0,5903	0,5817	0,5875
	0	1	1	1
	60	0,9605	0,9590	0,9598
	120	0,9381	0,9366	0,9382
	180	0,9172	0,9149	0,9173
	240	0,9001	0,8971	0,8995
	300	0,8823	0,8785	0,8809
	360	0,8614	0,8584	0,8608
	420	0,8482	0,8453	0,8477
25	480	0,8366	0,8344	0,8361
	1440	0,7274	0,7246	0,7263
	1500	0,7213	0,7184	0,7201
	1560	0,7120	0,7099	0,7116
	1620	0,7042	0,7022	0,7039
	1680	0,6980	0,6967	0,6977
	1860	0,6802	0,6782	0,6792
	1920	0,6756	0,6735	0,6745
	3000	0,6252	0,6232	0,6243

ANEXO XV: Índice de dispersabilidad de proteínas (PDI) de muestras de poroto de soja sometidas a diferentes tratamientos de secado a escala laboratorio

Temperatura de secado (°C)	Repetición	PDI (%)
25	R1	88,5
	R2	86,1
	R3	88,2
40	R1	85,1
	R2	89,1
	R3	87,3
55	R1	85,7
	R2	86,3
	R3	90,3
70	R1	87,0
	R2	85,3
	R3	88,6
90	R1	76,3
	R2	76,7
	R3	74,0