

Desarrollo y Optimización De Un Producto Untable a Base de Soya

C. Rojas¹, L. Aguilar, P. Tripaldi

Ingeniería en Alimentos

Universidad del Azuay

Av. 24 de Mayo 7-77 y Hernán Malo. Apartado postal 01.01.981

Cuenca-Ecuador

¹ crojasvilla@uazuay.edu.ec

Resumen

En el presente trabajo se desarrolló la optimización de un producto untable a base de soya. Para el efecto se consideraron tres procesos: hidrólisis enzimática, gelificación y fermentación del extracto hidrosoluble. Los diferentes factores estudiados fueron optimizados por diseños de Box-Behnken. La importancia de los factores se evaluó mediante el análisis del Half-Normal Plot. Las variables representativas para la hidrólisis enzimática fueron: porcentaje de enzima y tiempo de hidrólisis. Para la gelificación la respuesta fue la cantidad de extracto seco. En la fermentación la respuesta constituyó la evaluación sensorial realizada por un panel, evidenciando las variables relevantes para el producto: inóculo y tiempo de fermentación.

Palabras Claves: *Diseño experimental, Box-Behnken, Soya, Spread, Máxima gradiente, superficie de respuesta*

Abstract

In the present work, the optimization of a soy-based spread product was developed. Three processes were considered: enzymatic hydrolysis, gel transformation and fermentation of the hydrolytic extract. The factors studied were optimized by Box-Behnken design. The importance of the factors was evaluated analyzing the Half-Normal Plot. The main variables for enzymatic hydrolysis were: enzyme percentage and hydrolysis time. For gel transformation the response was the quantity of dry extract. For gel transformation the response was obtained from the sensorial evaluation performed by a panel. As a result, the main variables identified were: inoculum and fermentation time.

Keywords: *Experimental design, Box-Behnken, Soy, Spread, Steepest ascent, Surface response*

1. Introducción

La soya representa una excelente fuente de proteína de alta calidad con un bajo contenido de grasa saturadas y gran proporción de fibra. El uso de la soya en alimentos funcionales es muy interesante, el consumo de la proteína y fibra de soya reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y puede ayudar en el control glicémico. Además las isoflavonas de soya están asociadas en el tratamiento de diferentes enfermedades. Por lo tanto la soya puede jugar un importante rol en la promoción de la salud [1].

Los spreads se adaptan a los hábitos de consumo de la población, ya que se untan por lo general en pan, galletas, entre otros; pudiendo tomar una mayor relevancia según su calidad funcional. En la actualidad mercados como el mexicano y Brasilero han desarrollado spreads a base de soya con gran aceptabilidad por el consumidor. Los spreads pueden ser obtenidos sometiendo a la proteína nativa a un tratamiento previo a la gelificación, el cual puede consistir en una hidrólisis. Para la hidrólisis se pueden utilizar enzimas de alto grado de especificidad como la papaína o bromelina. Cuando se realiza este tratamiento sobre el extracto hidrosoluble de soya, debe conservarse su identidad: por tal motivo la hidrólisis debe ser controlada en un grado parcial para que pueda producirse posteriormente la gelificación de la proteína nativa. [2].

Para producir la precipitación de las proteínas de soya se suelen emplear sales como el Cloruro de Calcio y el Sulfato de Magnesio. La coagulación por el uso de sales ocurre por la disminución de las cargas negativas de la proteína como resultado de la unión de iones positivos con aminoácidos cargados negativamente en las moléculas de la proteína [3]. La soya es rica α -galactósidos que ocasionan problemas en la digestión del consumidor por lo que el extracto hidrosoluble debe ser fermentado; obteniéndose a su vez beneficios como son cambios en la acidez del producto final y el aumento de aromas [4].

Las metodologías experimentales consisten en establecer la relación existente entre las variables de estudio y la respuesta experimental. Al analizar todas las posibles combinaciones entre los niveles alto y bajo de cada factor y sus respectivas interacciones con las otras variables en estudio se realiza un screening. Este permite estimar cual es el cambio en la respuesta al variar los factores y también la influencia debida a las combinaciones lineales de los mismos [5].

Frecuentemente en el área de los alimentos se tienen que optimizar respuestas que dependen de varias percepciones; por ejemplo, ensayos organolépticos. La importancia del análisis sensorial de los alimentos se define en un sentido amplio como

el conjunto de técnicas de medida y evaluación de determinadas propiedades de los alimentos. Normalmente la mayoría de selecciones se basan sobre una serie de preferencias definidas en función de otros criterios. Las funciones multicriterio, tipo función de utilidad, son un instrumento fundamental que permite tener una estrategia matemática para estudiar las diferentes sensaciones gustativas de las muestras en una sola respuesta que representa el resultado total del experimento [6].

Bajo estos conceptos, el trabajo realizado presenta una aplicación de diversas metodologías de diseño experimental para estudiar y optimizar tres procesos secuenciales en la elaboración de la crema de soya: 1) Hidrólisis enzimática, 2) gelificación y 3) Fermentación del extracto hidrosoluble.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Se ha utilizado los laboratorios de análisis sensorial y de tecnología de alimentos de la Universidad del Azuay provistos de marmitas termizadas con sus respectivos controladores de temperatura, balanzas técnicas y analíticas, bromelina de disponibilidad comercial marca McComick, la cual no se encuentra en estado puro y esta mezclada con sal, azúcar y silicato de calcio. El inóculo con el que se trabajó es comercial de la marca Hansen, que contiene *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteorides* subsp. *cremoris* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, cloruro de magnesio y cloruro de calcio. Como materia prima se ha utilizado extracto hidrosoluble de soya en una proporción de 8.5% de sólidos totales.

2.2. Métodos

2.2.1. Diseño factorial completo. Un diseño factorial completo [7] se denota como 2^k , en este tipo de diseños los factores a estudiar vienen colocados a dos niveles, uno bajo (-) y otro alto (+). El diseño factorial es una metodología de screening que permite determinar las variables experimentales y las interacciones que tienen una influencia significativa sobre el resultado. En otras palabras, permite estimar lo más correctamente posible cual puede ser la influencia que tendrá la respuesta al cambiar independientemente alguno de los factores y también la influencia del cambio contemporáneo e independiente de dos o más factores.

2.2.2. Box-Behnken. El diseño de Box-Behnken [8] es una metodología de optimización y se aplica cuando existen tres o más factores y suele ser eficiente en cuanto al número de experimentos. Es un

diseño rotatable o casi rotatable que se diferencia en cuanto no tiene experimentos en los vértices de la región experimental.

2.2.3. Simplex. El método simplex [9] es una técnica de optimización iterativa que permite mejorar la respuesta uno por uno. El procedimiento finaliza cuando ya no es posible mejorar más dicha respuesta. Partiendo del valor de la función objetivo en un vértice cualquiera, la técnica consiste en buscar sucesivamente otro vértice que mejore al anterior. La búsqueda se hace siempre a través de los lados del polígono. Como el número de vértices es finito, siempre se podrá encontrar la solución.

2.2.4. Máxima pendiente. La máxima pendiente [10] es un método de optimización que funciona solo si el dominio experimental ha sido definido con un grado razonable de certeza. Muy frecuentemente los experimentos iniciales (screening) permiten situar el área de interés del cual se parte para obtener el máximo. Este método es útil incluso con muchas variables; sin embargo es invariante al escalado de las mismas y por lo general encuentra soluciones muy cercanas al óptimo. Máxima pendiente se basa en la pendiente de la superficie de respuesta, asumiendo un modelo lineal. Ésta se obtiene evaluando los incrementos asignados a cualquier variable en modo de maximizar la respuesta. Para obtener el máximo incremento Δy , cualquier variable x_j debe ser modificada por un incremento Δx_j proporcional al coeficiente b_j .

2.2.5. Superficie de respuesta. El método de optimización de superficie de respuesta [11] se utiliza para determinar un punto óptimo. Adicionalmente, es una buena alternativa gráfica que muestra la relación entre las variables experimentales y la respuesta. Para poder determinar un óptimo es necesario que la función polinomial contenga términos cuadráticos.

2.2.6. Evaluación sensorial. La valoración sensorial [12] ha demostrado ser un instrumento de gran eficacia para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento. El análisis sensorial se ha definido como una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos de las personas hacia ciertas características intrínsecas de un alimento como son su sabor, olor, color y textura, que son los indicadores organolépticos de aceptación o rechazo de un producto, por lo que el resultado de este complejo de sensaciones captadas e interpretadas son usadas para medir la calidad de los mismos. La valoración sensorial es útil además para el control del proceso, tanto como adaptación del alimento a su perfil final, como para realizar modificaciones o correcciones;

permitiendo obtener condiciones para conseguir datos que posteriormente serán tratados estadísticamente.

2.2.7. Funciones de utilidad. Las funciones de utilidad [13] son metodologías muy conocidas de las estrategias de decisión multicriterio. El enfoque es la forma más simple y fácilmente entendible para tomar decisiones a partir de una gran variedad de fuentes (respuestas), ya que no requiere ninguna restricción fuerte en las estructuras de preferencia de la fórmula. Estas se basan en la definición del valor de la función parcial; es decir, una función de transformación t , para cada criterio en forma de estandarizar el valor de la función parcial transformando los valores del criterio en una misma escala (entre 0 y 1). Por lo general se necesitan definir la mejor y peor condición para cada criterio.

3. Resultados y discusión

3.1. Primer proceso (Hidrólisis enzimática)

Para el proceso de hidrólisis los granos de soya fueron seleccionados, escaldados, remojados por 12 horas a 35°C. Una vez triturados, el extracto es pasteurizado a 72°C por 15 segundos, enfriado a la temperatura de trabajo de la enzima según el plan experimental y finalmente incubado. Para el desarrollo experimental de este primer proceso se han propuesto las siguientes variables para estudiarlas combinadamente frente al descenso en el punto crioscópico que representó el grado de hidrólisis de la proteína de soya.

Tabla 1. Variables y condiciones experimentales de screening. Proceso de hidrólisis enzimática

ID.	Variable	Unidad	Mínimo -1	Central 0	Máximo 1
X ₁	Porcentaje de enzima	%	0.3	0.5	0.7
X ₂	Temperatura de hidrólisis	°C	32	35	38
X ₃	Tiempo de hidrólisis	minutos	25	50	75

Con las variables señaladas en la tabla 1 se planificó y desarrolló un diseño de Box-Behnken, resultando la siguiente matriz del modelo y el punto crioscópico de cada experimento.

Tabla 2. Matriz del modelo de Box-Behnken. Proceso de hidrólisis enzimática

Exp.	I	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ ²	X ₂ ²	X ₃ ²	Crios.
1	1	-1	-1	0	1	1	0	-0.3101
2	1	1	-1	0	1	1	0	-0.5305
3	1	-1	1	0	1	1	0	-0.3191
4	1	1	1	0	1	1	0	-0.5457
5	1	-1	0	-1	1	0	1	-0.3118
6	1	1	0	-1	1	0	1	-0.4843
7	1	-1	0	1	1	0	1	-0.3127
8	1	1	0	1	1	0	1	-0.4850
9	1	0	-1	-1	0	1	1	-0.3848
10	1	0	-1	1	0	1	1	-0.3905
11	1	0	1	-1	0	1	1	-0.4081
12	1	0	1	1	0	1	1	-0.4160
13	1	0	0	0	0	0	0	-0.4322

Mediante regresión de mínimos cuadrados ordinarios (OLS) [14] se obtuvieron los coeficientes del modelo.

Tabla 3. Coeficientes de las variables de screening. Proceso de hidrólisis enzimática

Coef.	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₁	b ₂₂	b ₃₃
	-0.4322	-0.0990	-0.0047	-0.0063	0.0036	0.0022	0.0301

Para observar las variables ponderantes en el modelo, se utilizó el Half-Normal Plot [7]; como se observa en la figura siguiente:

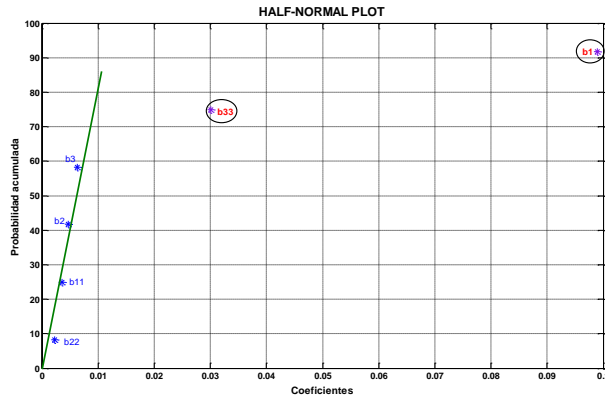


Figura 1. Half-Normal Plot de los coeficientes de regresión. Proceso de hidrólisis enzimática

Se observa que existen 2 puntos distantes de la recta de distribución que corresponden a los coeficientes de las variables influyentes en el diseño en estudio, los cuales corresponden a las variables: X₁ y X₃. El polinomio de screening resulta ser:

$$Y = -0.4322 - 0.0990X_1 + 0.0301X_3^2 \quad (1)$$

La gráfica del polinomio anterior brinda una visión más clara del comportamiento y a donde se ubica el campo de mayor hidrólisis.

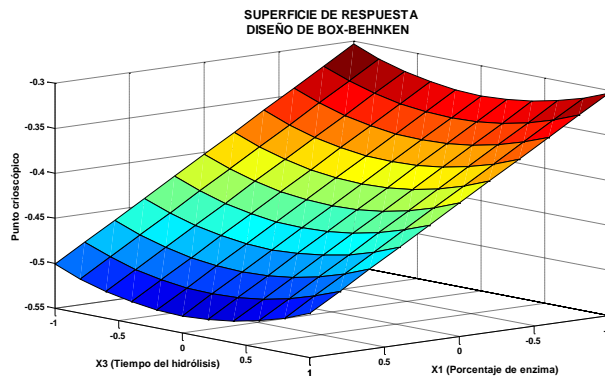


Figura 2. Superficie de respuesta. Proceso de hidrólisis enzimática

El polinomio 1 y figura 2 muestran la relación que existe entre el tiempo de hidrólisis y el porcentaje de enzima, y la forma como influyen en el descenso del punto de crioscópico. El porcentaje de enzima actúa de forma antagónica en una proporción de 3 veces más que el tiempo, presentando el mejor campo de respuesta a bajos porcentajes; mientras que el tiempo de hidrólisis en efecto cuadrático presenta un sinergismo sobre la hidrólisis. Queda demostrada la

alta especificidad de la bromelina para hidrolizar las uniones peptídicas de la proteína de soya [15].

Para optimizar se ha utilizado la metodología Simplex. La figura 3 esquematiza el recorrido del método en búsqueda del óptimo.

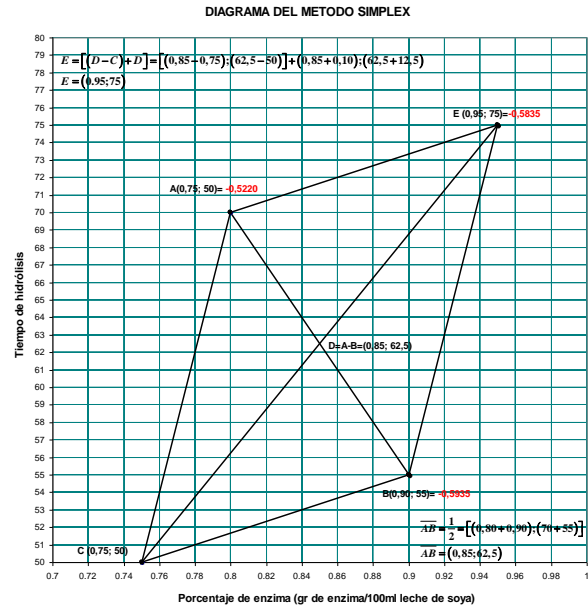


Figura 3. Optimización método simples. Proceso de hidrólisis enzimática

Resultando un descenso del punto crioscópico de -0.5935. Quedando así establecidas las mejores condiciones para el primer proceso; las que corresponden a 0.90% de enzima y 55 minutos para el tiempo de hidrólisis; mientras que la temperatura se mantuvo fijo a un valor de 32°C.

3.2. Segundo proceso (Gelificación)

En el proceso de gelificación, fueron mezcladas las sales y diluidas en 100 mL de agua, se aplicó cuando el extracto de soya, previamente hidrolizado según el paso anterior, alcanza la temperatura de cada experimento y son incubadas por 30 minutos. El gel (coágulo) obtenido fue sometido a desecación para calcular el extracto seco de cada experimento. En este proceso se definió tres variables consideradas las más importantes y críticas para la formación del coágulo. La siguiente tabla muestra las condiciones experimentales:

Tabla 4. Variables y condiciones experimentales. Proceso de gelificación

LD.	Variable	Unidad	Mínimo	Central	Máximo
X ₁	Cloruro de magnesio	%	-1	0.35	0.4
X ₂	Cloruro de calcio	%	0.2	0.25	0.3
X ₃	Temperatura de gelificación	°C	80	85	90

Se planificó y ejecutó un diseño de Box-Behnken. La respuesta medida en este proceso correspondió a la cantidad de extracto seco a 100°C luego del

escurrido del gel formado en un lienzo. La tabla 5 muestra la matriz del modelo y la respuesta experimental.

Tabla 5. Matriz del modelo Box-Behnken. Proceso de gelificación

Exp.	I	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ ²	X ₂ ²	X ₃ ²	% E. Seco
1	1	-1	-1	0	1	1	0	8.440
2	1	1	-1	0	1	1	0	8.590
3	1	-1	1	0	1	1	0	10.179
4	1	1	1	0	1	1	0	9.939
5	1	-1	0	-1	1	0	1	9.029
6	1	1	0	-1	1	0	1	11.846
7	1	-1	0	1	1	0	1	9.970
8	1	1	0	1	1	0	1	10.739
9	1	0	-1	-1	0	1	1	8.965
10	1	0	1	-1	0	1	1	7.991
11	1	0	-1	1	0	1	1	10.461
12	1	0	1	1	0	1	1	11.092
13	1	0	0	0	0	0	0	9.549
R ₁		0	0	0				10.896
R ₂		0	0	0				10.248
R ₃		0	0	0				10.924
R ₄		0	0	0				10.645

Las 4 réplicas al punto central sirven para estimar el error expandido [16]; para lo cual se calcula la desviación estándar y el valor del *t-student*.

Tabla 6. Error expandido de los coeficientes de regresión. Proceso de gelificación

Std= 0.31281	alfa= 0.025			gl= 16			t _{student} = 2.4729
Cij	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₁	b ₂₂	b ₃₃
Uexp	0.7736	0.2735	0.2735	0.2735	0.5117	0.5117	0.5117

Mediante regresión OLS se obtuvieron los coeficientes, que comparados con el error, establece las variables significativas.

Tabla 7. Coeficientes de regresión las variables. Proceso de gelificación

Coef.	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₁	b ₂₂	b ₃₃
	9.5487	0.4372	0.3431	0.5538	0.2536	-0.5153	0.5940

Se estableció entonces el polinomio de screening de la segunda etapa el cual corresponde a:
 $E.S. = 9.5487 + 0.4372X_1 + 0.3431X_2 + 0.5538X_3 - 0.5153X_2^2 + 0.5940X_3^2$ (2)

Del polinomio 2 se rescata que son importantes todas las variables, principalmente a nivel de efectos principales de forma sinérgica. No existe efectos de interacción; es decir no se encontraron ni sinergias ni antagonismos que determinen grandes cambios en el extracto seco. Se justifica que la temperatura en este proceso sea la variable más importante, debido a que el calor es esencial para desnaturalizar las proteínas que van a exponer sus regiones hidrofóbicas y los grupos sulfhidrilos para facilitar la obtención de una coagulación eficiente. La coagulación de las proteínas de soya ocurre cuando ellas son insolubilizadas irreversiblemente como resultado del desdoblamiento de las moléculas que son atraídas por la neutralización de sus cargas para formar puentes intermoleculares, cuando son adicionadas sales de magnesio o calcio. La coagulación por el uso de iones ocurre en consecuencia de la disminución de las cargas negativas de la proteína como resultado de

la unión de iones positivos con aminoácidos cargados negativamente en las moléculas de la proteína. Finalmente la molécula abierta es capaz de agregar los nuevos iones, y de esa forma la coagulación es irreversible [3].

Se optó por aplicar la estrategia optimización de máxima pendiente para encontrar un punto de mejor respuesta; para lo cual se toma como punto de partida para el ascenso el mejor experimento del diseño de Box-Behnken (experimento 6). Las condiciones para el nuevo experimento se observa en la siguiente tabla:

Tabla 8. Valores experimentales para optimización de máxima pendiente. Proceso de gelificación

Var.	Escalado	Coef	K	Nueva Var.	Nuevo Esc.	V. Real
X ₁	1	0.43716	0.5	X ₁ '	1.21858	0.41
X ₂	0	0.34312		X ₂ '	0.17156	0.26
X ₃	-1	0.55381		X ₃ '	-0.723095	81.4

Se realiza la corrida del nuevo experimento con las siguientes condiciones experimentales, 0.41% de cloruro de magnesio, 0.26% de cloruro de calcio y 81.4°C para la temperatura de gelificación. Con estas condiciones experimentales se obtiene como respuesta un valor de extracto seco de 12.76%, que comparándola con la del experimento de partido refleja un aumento.

3.3. Tercer proceso (Fermentación del extracto hidrosoluble)

En el proceso de fermentación se siguió a partir de los procesos optimizados anteriormente, al que se le añade una post curación del gel obtenido dentro del suero de leche de soya, por el tiempo que establece cada experimento. Esta etapa presenta inicialmente un estudio exploratorio de screening en el que se evalúan los factores del proceso de fermentación del extracto de soya tipo spread que influyen en la calidad gustativa del mismo. Para el desarrollo experimental se han propuestos las variables descritas en la tabla a continuación, para estudiarlas y optimizarlas frente a la aceptación sensorial del producto final.

Tabla 9. Variables y condiciones experimentales. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

LD.	Variable	Unidad	Mínimo -1	Central 0	Máximo 1
X ₁	Inóculo de fermento	%	0	2	4
X ₂	Temperatura de fermentación	°C	22	32	44
X ₃	Tiempo de fermentación	horas	1	6	11

Con estas variables se planificó y ejecutó un diseño factorial 2³. Mediante una ficha de evaluación sensorial diseñada para la valoración sensorial, cada uno de los experimentos ejecutados fue testeado sensorialmente uno por día. Se utilizó un panel semientrenado conformado por 30 personas; para familiarizar al grupo de catación con el análisis a realizar, se prepararon previamente una serie de muestras al azar de la matriz del diseño. En el

análisis se utilizó la prueba descriptiva con calificación de escalas de intervalo [17]. En ésta, cada juez registró dentro de una ficha de catación las percepciones sensoriales en una escala ordinal. Para la primera impresión de 1 a 5. Para tonalidad, aroma, gusto y regusto de 1 a 4. Para la aceptación final de 0 a 3.

Para estudiar las respuestas generadas se ha utilizado funciones de utilidad, con la finalidad de modular y puntuar cada una de las percepciones sensoriales. La función de utilidad realiza una transformación a una escala de 0 a 1 de cada atributo según un criterio lógico y preestablecido (figura 4), independientemente de la escala de medida. Valores cercanos a cero en la función utilidad indican inaceptabilidad, mientras que valores cercanos a la unidad indican la máxima aceptación.

La función lineal (Figura 4a) y logarítmica (Figura 4b) premian los atributos que se esperan sean los más aceptables en el producto. Estas sensaciones corresponden a: Tonalidad blanco, aroma agradable, primera impresión y la aceptación final.

La función inversa lineal (Figura 4c) penaliza los atributos de forma proporcional, este tipo de función se usa normalmente cuando se trabaja con atributos no deseables. Los atributos modulados con ésta función son: Tonalidad amarilla, tonalidad rosada, aroma desagradable, gusto dulce, gusto amargo, gusto picante, otro gusto y otro regusto.

La función normal (Figura 4d) premia la presencia intermedia de los atributos, esto quiere decir que no debe existir ausencia, ni una presencia muy marcada de un cierto atributo. Con esta función se evaluó los atributos: Gusto salado, gusto ácido y regusto ácido.

Atributos como la tonalidad blanca, aroma anormal, gusto dulce y picante, y regusto dulce y picante; no se consideraron en el cálculo de la función de utilidad, debido a que para todos los experimentos no existieron estas percepciones, manteniéndose constante.

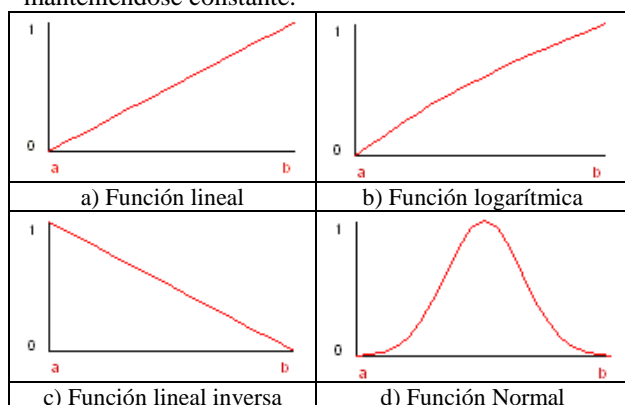


Figura 4. Funciones de utilidad. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

La tabla 10 muestra los valores medianos de las respuestas sensoriales y la función de utilidad

calculada. La función de utilidad total para cada experimento corresponde al promedio de los valores de las funciones de utilidad para cada atributo evaluado.

Tabla 10. Resultados sensoriales de la crema de soya etapa de screening. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Experimento	Primera impresión	Tonalidad		Aroma				Gusto				Regusto				Aceptación final	F.U.
		Amarillo	Rosado	Agradable	Fuerte	Cereal	Desagradable	Salado	Amargo	Acido	Otro	Salado	Amargo	Acido	Otro		
E1	3	3	0	1	1	3	2	3	2	2	0	2	2	2	0	2	0.282
E2	3	3	0	1	1	3	2	3	1	2	0	3	2	2	0	2	0.407
E3	3	3	0	1	1	3	3	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.313
E4	3	3	0	2	1	3	2	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.376
E5	3	3	0	1	1	3	2	3	2	1	0	3	2	0	0	2	0.345
E6	4	2	0	3	1	3	1	4	2	2	0	4	2	2	0	3	0.470
E7	3	3	0	1	1	2	2	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.345
E8	4	1	1	3	2	3	2	2	1	1	1	2	1	2	1	3	0.408
R1	4	2	0	3	1	3	1	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.532
R2	4	2	0	3	1	3	1	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.532
R3	4	2	0	3	1	3	1	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.532
R4	4	2	0	3	1	3	1	3	2	2	0	3	2	2	0	3	0.595

La función de utilidad representó la aceptación global del producto, representada por cada una de las modulaciones de los atributos. Esta función utilidad corresponde a la respuesta experimental (Y) de cada experimento. La matriz del diseño queda definida de la siguiente forma:

Tabla 11. Matriz del modelo factorial. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Exp.	I	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	F.U.
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0.282
2	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	0.407
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	0.313
4	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0.376
5	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	0.345
6	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	0.470
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	0.345
8	1	1	1	1	1	1	1	1	0.408
R ₁		0	0	0					0.532
R ₂		0	0	0					0.532
R ₃		0	0	0					0.532
R ₄		0	0	0					0.595

Esta respuesta se utilizó para calcular los coeficientes del modelo de regresión del diseño experimental mediante aplicación de regresión de mínimos cuadrados ordinarios OLS.

Tabla 12. Coeficientes de regresión de las variables. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Coef.	b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₂	b ₁₃	b ₂₃	b ₁₂₃
	0.368	0.047	-0.008	0.024	-0.016	0.000	-0.008	0.000

El error expandido se calculó a partir de las 4 réplicas al punto central, para establecer los coeficientes significativamente diversos de cero.

Tabla 13. Parámetros para el cálculo del error expandido. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Std= 0.03150	alfa= 0.05
gl= 11	t _{student} = 2.2010
U_{expand} = 0.02451	

Se observa que la variable X₁ es significativa, mientras que la variable X₃ está al borde de la comparación con el error, por lo que se ha decidido mantenerla como significativa. Queda establecido el modelo de screening del tercer proceso:

$$Y = 0.368 + 0.0047X_1 + 0.024X_3 \quad (2)$$

Del polinomio anterior se rescata que las variables son sinérgicas; es decir, a medida que aumenta el porcentaje de inóculo y el tiempo de fermentación, la respuesta de aceptación sensorial viene favorecida. Esto se explica debido a la capacidad heterofermentativa del inóculo utilizado el cual ha sido capaz de degradar los oligosacáridos presentes en la soya en varios componentes de características aromáticas. [18]. De esta forma la fermentación contribuye beneficiosamente al proceso tecnológico y a la calidad del producto final en términos de sus atributos sensoriales [19].

Para optimizar las dos variables se aplicó el método de la superficie de respuesta, realizando un diseño central compuesto, utilizando nuevamente la evaluación sensorial y funciones de utilidad, al igual que en la etapa de screening. La tabla 14 muestra los resultados medianos de la evaluación sensorial y la función de utilidad total.

Tabla 14. Resultados sensoriales de la crema de soya etapa de optimización. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Experimento	Primera impresión	Tonalidad		Aroma					Gusto				Regusto				Aceptación final	F.U.
		Amarillo	Rosado	Agradable	Fuerte	Cereales	Desagradable	Anormal	Salado	Amargo	Ácido	Otro	Salado	Amargo	Ácido	Otro		
E1	3	3	0	1	1	3	2.5	0	3	2	2	0	2.5	2	2	0	2	0.310
E2	3	3	0	1.5	1	3	2	0	3	1.5	2	0	3	2	2	0	2	0.413
E3	3	3	0	1	1	2.5	2	0	3	2	1.5	0	3	2	1	0	2	0.329
E4	4	1.5	0.5	3	1.5	3	1.5	0	3	1.5	1.5	0.5	3	1.5	2	0.5	3	0.466
E5	3	2	0	2	1	3	2	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	0.423
E6	2	3	0	1	1	3	2	1	3	2	2	0	2	2	2	0	2	0.256
E7	2	2	0	4	1	3	1	0	4	2	3	0	4	2	2	0	2	0.477
E8	2	3	0	1	1	3	2	0	3	2	1	2	0	2	2	0	2	0.432
E9	2	1	0	3	2	3	1	0	3	1	3	0	3	1	2	0	3	0.687
R1	4	2	0	3	1	3	1	0	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.516
R2	4	2	0	3	1	3	1	0	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.516
R3	4	2	0	3	1	3	1	0	3	2	2	0	3	2	2	0	2	0.516
R4	4	2	0	3	1	3	1	0	3	2	2	0	3	2	2	0	3	0.575

Queda establecida la matriz de optimización con su respectivo vector respuesta.

Tabla 15. Matriz del modelo de superficie de respuesta. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Exp.	I	X ₁	X ₃	X ₁ X ₃	X ₁ ²	X ₃ ²	F.U.
1	1	-1	-1	-1	1	1	0.310
2	1	1	-1	-1	1	1	0.413
3	1	-1	1	-1	1	1	0.329
4	1	1	1	1	1	1	0.466
5	1	1	0	0	1	0	0.423
6	1	-1	0	0	1	0	0.256
7	1	0	1	0	0	1	0.477
8	1	0	-1	0	0	1	0.432
9	1	0	0	0	0	0	0.687

Mediante una nueva regresión de mínimos cuadrados multivariante se obtuvieron los coeficientes de las variables y sus respectivas interacciones de orden superior obtener la superficie de respuesta:

Tabla 16. Coeficientes del modelo de superficie de respuesta. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Coef.	b ₀	b ₁	b ₃	b ₁₃	b ₁₁	b ₃₃
	0.566	0.068	0.020	0.009	-0.166	-0.051

Queda así establecido el polinomio de superficie de respuesta y su respectiva gráfica que permite

obtener las condiciones de optimalidad para el proceso de fermentación de la crema de soya.

$$Y = 0.5659 + 0.0678X_1 + 0.0195X_3 + 0.0085X_1X_3 - 0.1658X_1^2 - 0.0508X_3^2 \quad (3)$$

Del polinomio de screening 3 se observa que la variable X₁ y X₃ actúan ambas de manera sinérgica, provocando mejora de la función de utilidad a medida que aumentan sus valores dentro del dominio experimental. Los efectos cuadráticos permiten evaluar eventuales curvaturas que permitirán definir el campo de óptimo, según se muestra en la gráfica de superficie de respuesta:

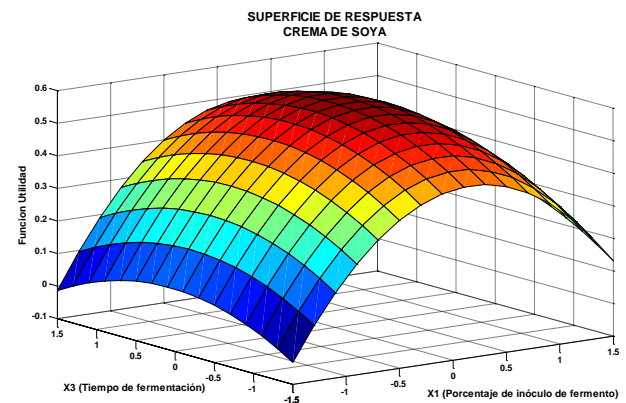


Figura 5. Superficie de respuesta. Proceso de fermentación del extracto hidrosoluble

Para obtener las condiciones analíticas que generan la máxima respuesta; considerando que en el dominio experimental presentado en la figura 5, la función presenta un máximo, se calcularon las derivadas parciales [20], pudiendo establecer las coordenadas escaladas de máximo.

$$\frac{\partial}{\partial X_1} = 0.0678 + 0.0085X_3 - 0.3316X_1 = 0$$

$$\frac{\partial}{\partial X_3} = 0.0195 + 0.0085X_1 - 0.1016X_3 = 0$$

Resolviendo el sistema de ecuaciones se obtiene que X₁ = 0,21 y X₃ = 0,216. A partir de las coordenadas escaladas de máximo, por medio de la ecuación de escalado de variables [21] se obtienen las condiciones naturales de cada variable. Para el inóculo de fermento en una proporción de 0.242% y 7.1 horas para el tiempo de fermentación.

4. Conclusiones

En este trabajo se logró optimizar las condiciones de proceso para obtener una crema de soya con hidrólisis de la proteína, mejorando las características funcionales y obteniendo un grado óptimo de extracto seco.

Para alcanzar una buena hidrólisis se tiene a 0.90% de enzima y 55 minutos para el tiempo; mientras que la temperatura se mantuvo fijo a un

valor de 32°C. Para el proceso de gelificación las condiciones son: 0.41% de cloruro de magnesio, 0.26% de cloruro de calcio y 81.4°C para la temperatura de gelificación. Para la fermentación las mejores condiciones se obtiene 0.242% de fermento y dejándola fermentar durante 7.1 horas.

Las condiciones de estos tres procesos secuenciales permitieron obtener una crema de soya de características sensoriales aceptables.

5. Referencias

- [1] Henkel, J. 2000. *Soybean: Health claims petitions: Soy Protein and the Reduced Risk of Certain Cancers*. The Salae company
- [2] Mejías, E., Ruíz, A., González, M. 2006. *Obtención de tofú de leche de soya proteolizada*. *Ciencia y tecnología de alimentos*. Vol. 16 (2): 41-46.
- [3] Ciabotti, S. 2007. *Desenvolvimento de um produto similar ao tofu com base na combinação do extrato de soja e soro de leite*. Tese de doctor em ciência dos alimentos. Universidade Federal de Lavras
- [4] Cocio, JA. 2006. *Elaboración de Quesillo de Leche de Soya (Glycine max) con Adición de Bacterias Prebióticas (Lactobacillus casei shirota y Bifidobacterium lactis Bb12)*. Tesis de licenciado en ciencia de los alimentos. Universidad Austral de Chile.
- [5] Marengo, E. 1994. *Ottimizzazione di processo e pianificazione sperimentale*. Talete S.r.l.
- [6] Montedoro, G. 1985. *Definizioni ed analisi delle caratteristiche olfattive e gustative degli alimenti*. Chiriotti Editori.
- [7] Box, G., Hunter, W. and Hunter S. 1978. *Statistics for experimenters. An introduction to design, data analysis, and model building*. John Wiley & Sons.
- [8] Gutiérrez, H. y De La Vara, R. 2008. *Análisis y diseño de experimentos*. Editorial McGraw-Hill.
- [9] Gabrielsson, J., Lind, NO. and Lundstedt, T. 2002. *Multivariate Methods in Pharmaceutical Applications. J. Chemometrics*. 16: 141-160.
- [10] Carlson, R. 1992. *Design and optimization in organic synthesis*. Elsevier Science Publishers B.V.
- [11] Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J. and Bergman, R. 1998. *Experimental design and optimization. Chemometr. Intel. Lab. Syst.* 42: 3-40.
- [12] Sancho, J., Bota, E. y De Castro, JJ. 2002. *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Alfaomega grupo editor, S.A. de C.V.
- [13] Pavan, M. 2003. *Total and partial ranking methods in chemical sciences*. Ph.D. thesis in chemical sciences. University of Milano-Bicocca.
- [14] Draper, NR. and Smith, H. 1981. *Applied regression analysis*. John Wiley & Sons, Inc.
- [15] Braverman, JBS. 1980. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. Editorial Omega, SA.
- [16] Massart, DL., Vandeginste, BGM. and Buydens, LMC. 1997. *Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part A*. Elsevier Science B.V.
- [17] Anzaldúa, A. 1994. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. Editorial Acribia, SA.
- [18] Ahmad, N., Li, L. Yang, XQ. Ning, ZX. and Atif, M. 2008. *Improvements in the flavour of soy cheese. Food Technol. Biotechnol.* 46(3): 252-261.
- [19] Salminen, S., Wright, AV. and Ouwehand, A. (Editors). 2004. *Lactic Acid Bacteria*, Marcel Dekker, Inc.
- [20] Krasnov, ML., Makarenko, GI. y Kiseliyov AI. 1976. *Cálculo variacional (ejemplos y problemas)*. Editorial Mir.
- [21] Lewis, GA., Mathieu, D. and Phan-Tan-Luu, R. 1999. *Pharmaceutical experimental design*. Marcel Dekker, Inc.