

**CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL Y PERFIL DE ÁCIDOS
GRASOS DE LA SEMILLA DE SOYA [*Glycine max* (L.) Merr.] A
DIFERENTES NIVELES TERMICOS**

por

Diana Carolina Álvarez Vargas

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2018

Aprobado por:

Elide Valencia, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

María Plaza, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Suzika Pagán Riestra, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Rosa I. Román Pérez, Ph.D.
Representante, Escuela Graduada

Fecha

Fernando Pérez, Ph.D.
Coordinador, Ciencia y Tecnología de Alimentos

Fecha

ABSTRACT

Soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] of varieties (V) PR 1-1, PR 16-2, PR 22-3 and Hinson Long Juvenile (HLJ) from two plantings (March 2016 and July 2016) were used in two studies. The objectives of the first study were (i) to determine nutritional composition [percentage of dry matter (DM), crude protein (CP), ash and total fiber (TF)], (ii) evaluate macrominerals concentrations (P, Mg, Ca and K) and microminerals (Fe, Mn and Zn), (iii) evaluate the percentage of crude fat (CF), saturated fat, total fatty acids (TFA), mono-unsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) and (iv) define fatty acid profile in soybeans seeds. Representative samples from each soybean variety (4 kg) were cleaned and 500 g taken and divided into four replicates. Seeds were then subjected to three levels of heat treatment (HT; 115, 135 and 145° C for 30 minutes) in a convection oven and one control. Samples were then ground in a Wiley mill. Three representative samples were then taken for chemical analysis at the Tropical Agriculture Experimental Station of the United States Department of Agriculture (USDA-TARS) chemical laboratory. Crude fat, saturated fat, TFA, MUFA, PUFA and fatty acid profile were analyzed at the Dairy One laboratory in New York. Both analyses followed the procedures described by the AOAC. Analysis of variance (SAS) was conducted and means separated with Fisher LSD. In the same way contrasts were used for the temperature effect (different thermal levels are contrasted) and for the effect of variety (contrasts were made with released varieties PR 1-1 and PR 16-2; not released PR 22-3 and another ethnic origin, HLJ). There was an interaction ($P < 0.05$) between V x HT for dry matter (DM). Varietal effect was only observed for CP where the highest percentage CP (43%) was found on PR 22-3. Planting date effect was significant for DM and CP. There was no interaction ($P > 0.05$) for macro-minerals between V x HT, except K. However, there was significant difference ($P < 0.05$) between V for K, Ca, Mg, P and Mn. Variety PR 1-1 and PR 16-2 (0.57%) surpassed PR 22-3

(0.49%) in P concentration. Meanwhile PR 1-1 and PR 16-2 surpassed PR 22-3 for Fe, Mn and K. For fatty acids there was no interaction between V x HT. On the other hand, there was also no interaction for saturated fat, TFA, MUFA and PUFA, except there was a significant effect of HT for saturated fat. Meanwhile, variety effect was significant for CF, MUFA and PUFA. There was an effect of variety for each fatty acid analyzed, while planting date was different for lauric acid, palmitoleic acid, stearic acid, linoleic acid and arachidonic acid. The second study assessed trypsin activity inhibition in soybeans from the second planting (July 2016) HT treatments and the control. An experimental design of a DCA with four repetitions was used. Trypsin activity followed the procedure described by the Tripsin Activity Assay kit from the Abcam® company. Analyses of variance (Infostat) were used and mean differences were separated using Fisher LSD. There was no interaction between V x HT ($P > 0.05$) for trypsin activity, while there was an effect of HT. In conclusion, HT did not affect most of the variables analyzed, but trypsin activity was inactivated with HT.

RESUMEN

Semillas de soya [*Glycine max* (L.) Merr.] de las variedades (V) PR 1-1, PR 16-2, PR 22-3 y Hinson Long Juvenile (HLJ) provenientes de dos siembras (marzo 2016 y julio 2016) se utilizaron en dos estudios. Los objetivos fueron: (i) determinar su composición nutricional [porcentaje materia seca (MS), cenizas, proteína bruta (PB) y fibra total (FT)], (ii) evaluar la concentración de macrominerales (P, Mg, Ca y K) y microminerales (Fe, Mn y Zn), (iii) evaluar el porcentaje de grasa cruda (GC), grasa saturada, ácidos grasos totales (AGT), ácidos grasos mono-insaturados (MUFA) y ácidos grasos poli-insaturados (PUFA) y (iv) definir el perfil de ácidos grasos en semillas de soya. Muestras representativas de lotes de semillas de cada variedad (4 kg) se limpiaron y se extrajeron 500g, siendo divididas en cuatro partes (cuatro réplicas). Las semillas se sometieron a tratamientos térmicos (TT; 115, 135 y 145° C por 30 minutos y un control) en un horno de convención. Luego se molieron en un molino Wiley. De estas se tomaron tres muestras representativas para los análisis químicos en el laboratorio de la Estación Experimental de Agricultura Tropical del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, (USDA-TARS). Mientras que la GC, grasa saturada, AGT, MUFA, PUFA y el perfil de ácidos grasos fueron analizados en el laboratorio Dairy One en New York, siguiendo la metodología descrita por la AOAC. Se llevaron a cabo análisis de varianzas (SAS) y las diferencias en medias se separaron con Fisher LSD. Del mismo modo se emplearon contrastes para el efecto de temperatura (se contrastan los diferentes niveles térmicos) y para el efecto de variedad (se realizaron contrastes con las variedades liberadas PR 1-1 y PR 16-2; no liberada PR 22-3 y de otro origen étnico, HLJ). Se encontró una interacción ($P < 0.05$) entre V x TT para materia seca (MS). El efecto de variedad presentó diferencia únicamente para PB. El mayor porcentaje de PB (43%) se encontró en la PR 22-3. Mientras que el efecto de siembra solo fue significativo para MS y PB. Para macro-microminerales no se encontró una interacción ($P > 0.05$) entre V x TT,

excepto K. Sin embargo, si se encontró una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre variedad para K, Ca, Mg, P y Mn. Las variedades PR 1-1 y PR 16-2(0.57%) superaron a la PR 22-3(0.49%) en concentración de P. Mientras que PR 1-1 y PR 16-2 superaron a PR 22-3 en Fe, Mn y K. Por otro lado, para grasa saturada, AGT, MUFA y PUFA no mostró interacción, siendo el efecto de TT significativo únicamente para grasa saturada, mientras efecto de variedad fue significativo para GC, MUFA y PUFA. Para los ácidos grasos no se presentó interacción, siendo el efecto de variedad significativo para cada uno de los ácidos grasos analizado. Mientras tanto, la fecha de siembra solo fue significativo para el ácido láurico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido araquidónico. El segundo estudio midió la inhibición de actividad de tripsina en semillas de soya de la segunda siembra (julio 2016) las cuales fueron sometidas a los TT descritos anteriormente. La actividad de tripsina siguió la metodología descrita por el *kit Tripsin Activity Assay* de la compañía Abcam®. Se utilizó un análisis de varianza (Infostat) y las diferencias entre media se separaron con Fisher LSD. La actividad de tripsina no mostró interacción ($P > 0.05$) entre V x TT, siendo el efecto de TT significativo. En conclusión, el tratamiento térmico no influyó en la mayoría de las variables analizadas, pero la actividad de tripsina se inactiva empleando un TT.

DEDICATORIA

A Dios, por este plan perfecto, donde guió mis pasos en este duro pero certero sendero llevándome a descubrir todos los dones que ha depositado en mí, sembrando la fortaleza necesaria para levantarme de cada frustración, vigorizando mi corazón e iluminando mi mente. Colocando en ese mismo sendero ángeles de luz que hicieron de esta trayectoria una placentera y grandiosa experiencia.

A esos seres maravillosos que siempre han cuidado de mí, y aún en mi adultez me ven como una niña, “mis padres”. Dedico también cada línea de este trabajo a mis familiares y amigos que de uno u otra forma siempre han creído en mí. Pero más que todo, por enseñarme que el cielo no es el límite y que esto es solamente el inicio de una larga trayectoria.

AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Educación Superior Ciencia y Tecnología (MESCyT), por darme la oportunidad de realizar estudios superiores mediante su patrocinio y apoyo durante esta larga jornada.

Al Recinto Universitario de Mayagüez, Puerto Rico por hacerme parte de su gran familia Colegial, dándome la oportunidad de desarrollarme profesionalmente y personalmente en esta prestigiosa universidad.

Al Dr. Elide Valencia por haberme incorporado a su línea de investigación. Brindándome su apoyo incondicional, su disposición, paciencia y dedicación. Ha sido un privilegio contar con su apoyo y guía.

A los miembros del comité graduado Dra. Suzika Pagán y Dra. María Plaza por su colaboración y participación en el desarrollo de esta investigación.

A la Estación de Investigación en Agricultura Tropical (TARS- Mayagüez), especialmente al señor Delvis Pérez por su disposición y entrega a la hora de asistirme en los análisis químicos.

A todos los profesores del departamento de Ciencias y Tecnología de Alimentos (CITA), por su colaboración, guía y formación profesional durante las clases. En especial, Dra. Lynette Orellana y Dr. Fernando Pérez, gracias de corazón por creer en mí y en mi profesionalismo.

A todos mis compañeros y amigos por darme ánimo en aquellos momentos donde veía esta meta inalcanzable. En especial a los estudiantes graduados Stephanie Jiménez, Elisa Benítez, Jorge Ortega, Armarynette Berrios, Gabriela Román, Diana Buitrago y Edgar Quijía. Además de mis amigos Laura Inoa, Manauris Calazan, Lisette Patiño, Ángela Martínez y por último y no menos importante Jennyll Flores.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT	ii
RESUMEN.....	iv
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	4
1.1 Objetivo General	4
1.2 Objetivos Específicos.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Importancia de la soya en el mundo y el trópico.....	5
3.2 Composición química de la semilla de soya	6
3.2.1 Proteína.....	6
3.2.2 Lípidos.....	7
3.2.3 Carbohidratos	7
3.2.4 Vitaminas y Minerales	8
3.3 Factores que afectan la calidad de la semilla de soya	9
3.4 Usos industriales de la semilla de soya	11
3.5 Estructura de las oleaginosas	12
3.5.1 Procesos de extracción (solvente, extrusión y prensado).....	13
3.5.2 Factores que influyen en la composición de ácidos grasos en la semilla de soya.....	14
3.6 Sub-productos de procesamiento de la semilla de soya	15
3.6.1 Cáscara	15
3.6.2 “Expeller” y harina.....	16
3.6.3 Sojilla	17
3.6.4 Rastrojo	17

3.7 Usos de sub-productos de la semilla de soya en la alimentación animal.....	17
3.7.1 Composición química y el valor nutritivo de diferentes sub-productos.....	18
3.7.2 Composición de ácidos grasos	19
4. Experimento I. Determinación de la composición nutricional y perfil de ácidos grasos de la semilla de soya [<i>Glycine max</i> (L.) Merr.], tostada a tres niveles de temperatura y un control.....	21
4.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
4.1.1 Composición química.....	22
4.1.2 Perfil de ácidos grasos.....	22
4.1.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
4.2 RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	24
4.2.1 Análisis químicos	24
4.2.2 Macrominerales	29
4.2.3 Microminerales.....	33
4.2.4 Grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales e instauración de los ácidos grasos	37
4.2.5 Ácidos grasos	40
4.3 CONCLUSIONES.....	46
5. Experimento II. Evaluar los niveles o presencia de tripsina en la semilla de soya [<i>Glycine max</i> (L.) Merr.], tostada a tres niveles de temperatura y un control	47
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
5.1.1 Diseño experimental y análisis estadístico.....	51
5.2 RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	51
5.2.1 Actividad de tripsina	51
5.3 CONCLUSIONES.....	54
6 RECOMENDACIONES.....	55
7 LITERATURA CITADA	56

LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
Tabla 1. Vitaminas y minerales en productos derivados de la soya.....	9
Tabla 2. Promedios de la composición química y valor nutritivo de diferentes formas del cultivo de soya.....	18
Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de la semilla de soya	20
Tabla 4. Métodos empleados para el análisis de composición química de la semilla de soya.....	23
Tabla 5. Análisis de varianza para el porcentaje de humedad, materia seca, cenizas, proteína bruta y fibra total en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	24
Tabla 6. Interacción entre variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya por tratamiento térmico para el porcentaje de materia seca evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	25
Tabla 7. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de cenizas, fibra total evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	26
Tabla 8. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de humedad, materia seca y proteína bruta evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	28
Tabla 9. Análisis de varianza para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	29
Tabla 10. Interacción entre variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya por tratamiento térmico para el porcentaje de potasio en base seca evaluado en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	30
Tabla 11. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	31

Tabla 12. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico..... 32

Tabla 13. Análisis de varianza para microgramos entre gramos de hierro, manganeso y zinc en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico..... 33

Tabla 14. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para microgramos entre gramos de hierro, manganeso y zinc evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico. 34

Tabla 15. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para microgramos entre gramos de hierro, manganeso y zinc evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico..... 35

Tabla 16. Análisis de varianza para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturado en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico. 37

Tabla 17. Efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturado evaluados en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico. 38

Tabla 18. Efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturado evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico..... 39

Tabla 19. Análisis de varianza para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido α -linolénico y ácido araquídico en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico..... 41

Tabla 20. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido palmitoleico, evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	42
Tabla 21. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido esteárico y ácido oleico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.....	43
Tabla 22. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido linoleico, ácido linolénico y ácido araquídico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	43
Tabla 23. Efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico y ácido araquídico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	45
Tabla 24. Preparación estándar para la curva de tripsina.	48
Tabla 25. Medida por muestra para la preparación de reaction mix.	49
Tabla 26. Análisis de varianza para actividad de tripsina en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en siembra de julio 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	52
Tabla 27. Efecto de tratamiento térmico para actividad de tripsina evaluado en semillas de soya en siembra de julio 2016, Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	53
Tabla 28. Efecto de variedades PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile de semillas de soya para actividad de tripsina evaluado en semillas de soya en siembra de julio 2016, Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.	53

LISTA DE FIGURAS

Figura

Página

Figura 1. Curva de calibración estándar para el ensayo de actividad de tripsina..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AGE	ácidos grasos esenciales
AGT	ácidos grasos totales
ANOVA	análisis de varianza
AOAC	asociación oficial de química analítica (por sus siglas en inglés)
C12:0	ácido láurico
C14:0	ácido mirístico
C16:0	ácido palmítico
C16:1	ácido palmitoleico
C18:0	ácido esteárico
C18:1	ácido oleico
C18:2	ácido linoleico
C18:3	ácido α -linolénico
C20:0	ácido araquídico
Ca	calcio
CF	grasa cruda (por sus siglas en inglés)

CP	proteína cruda (por sus siglas en inglés)
DCA	diseño completamente al azar
DM	materia seca (por sus siglas en inglés)
DMS	diferencia mínima significativa
EEA	Estación Experimental Agrícola en Isabela
Fe	hierro
FNB	junta de nutrición y alimentación (por sus siglas en inglés)
FS	fecha de siembra
FT	fibra total
GC	grasa cruda
GOS	galacto oligo-sacaridos
HLJ	Hinson long juvenile
K	potasio
Mg	magnesio
Mn	manganeso
MS	materia seca
MUFA	ácidos grasos mono-insaturados (por sus siglas en inglés)

N	nitrógeno
ND	no detectado
P	fósforo
PB	proteína bruta
PR	Puerto Rico
PUFA	ácidos grasos poli-insaturados (por sus siglas en inglés)
TARS-USDA	Estación de Investigación en Agricultura Tropical del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (por sus siglas en inglés)
TF	fibra total (por sus siglas en inglés)
TFA	ácidos grasos totales (por sus siglas en inglés)
TPCK	<i>chymotrypsin inhibitor solution</i>
TT	tratamiento térmico
UPRM	Universidad de Puerto Rico, Mayagüez
V	variedad/es
vs	versus
Zn	zinc
α GAL	α -galactosidasa

©Diana Carolina Álvarez Vargas, 2018

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la agricultura del Caribe y Puerto Rico están insertadas en un complejo escenario caracterizado por la inestabilidad en los precios de los productos agrícolas e insumos (CEPAL, IICA, & FAO, 2015). Un ejemplo de ello, son los altos costos de la producción intensiva de la leche en el trópico. Los elevados costos de las materias primas importadas para la elaboración de los alimentos balanceados es la causa principal de la inestabilidad que afecta actualmente esta actividad (Tobía et al., 2006). Una solución viable para reducir los costos de alimentación en los sistemas de producción de leche y carne en el Caribe, es producir forraje de alta calidad nutricional que permita reducir la cantidad de alimentos balanceado (concentrado) en las raciones.

En lo referente al enfoque nutricional para la alimentación animal, la principal fuente de energía es el maíz (*Zea mays*), mientras que en proteína se encuentra el afrecho de soya [*Glycine max* (L.). Merr.]. Es por ello, que la Universidad de Puerto Rico, Mayagüez (UPRM), en los últimos años ha prestado especial atención en evaluar variedades de soya que se adapten a las condiciones climáticas de la isla (Aponte, Valencia, & Beaver, 2015). Recientemente se han liberado dos variedades (1-1 y 16-2), (Beaver, González, & Valencia, 2016) con múltiples usos como heno, ensilaje y granos.

La soya es una oleaginosa de la cual proviene la mayor fuente de proteína vegetal y un componente importante en los alimentos balanceados siendo utilizada en la nutrición animal a nivel mundial. El producto principal de la soya es el aceite, el cual su método de extracción se realiza por procesos convencionales (mecánicos) o procesos acuosos (extracción por solvente), (Grasso, 2013).

La manera en que el grano es procesado determina las características de los productos finales como: afrecho o harina de soya, “expeller”, salvado, el concentrado y aislado de proteína. El tratamiento térmico de estos productos es una parte esencial ya que el mismo sirve para mejorar el sabor, aumentar el valor nutritivo e inactivar anti-nutrientes. Según Ruiz (2015) la soya sin tostar tiene una calidad nutricional inferior en comparación cuando se tostaba adecuadamente

Aunque, el afrecho de soya cumple un papel importante en la industria animal en base a balanceo de ración para proteína en concentrados, en Puerto Rico, no existe una industria destinada a la extracción del aceite crudo de la semilla de soya. Por tal razón, hay que buscar alternativas para el uso de los granos con miras a mejorar la fuente proteica y energética en animales en producción como son las vacas lecheras. De igual forma, el proceso de tostado de dichas semillas incrementará nuevas posibilidades de conocer más a fondo como estas nuevas variedades se comportan antes diversos parámetros de temperaturas y como las mismas podrían afectar o beneficiar la nutrición y el rendimiento del animal.

Asimismo, la cuantificación del perfil de ácidos grasos de las variedades de semilla de soya ayudará a determinar qué variedad tiene un valor de ácidos grasos insaturados más elevado. La principal importancia de los ácidos grasos insaturados en este estudio, es que la dieta de los sistemas de lactancia de rumiantes mejora su eficacia cuando un 16% o más de la energía metabolizable es proporcionada por ácidos grasos de cadena larga (Kronfeld, 1976). De este modo, se considera factible evaluar estas nuevas variedades de semillas de soya desarrolladas ya que podrían tener características distintivas a las que ya han sido estudiadas y se pueda determinar cuál de estas nuevas variedades sería más factible para ser empleada en la alimentación de vacas lecheras.

Es por ello que, el propósito de este estudio es suministrar información básica con relación a la composición nutricional de la semilla y desarrollar un perfil de ácidos grasos de cuatro variedades de soya. Mediante el estudio de la semilla de soya, se busca conocer la composición a nivel nutricional teniendo en cuenta el contenido proteico y tipo de ácidos grasos para utilizarlo como insumo en la ración alimentaria de vacas lecheras en el Caribe.

OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Determinar la composición nutricional y perfil de ácidos grasos de variedades de semillas de soya [*Glycine max* (L.) Merr.], PR 1-1, PR 16-2, PR 22-3 y Hinson Long Juvenile (HLJ) tostadas a tres niveles térmicos (115, 135 y 145° C por 30 minutos) y un control (sin tratamiento térmico) en dos fechas de siembra.

1.2 Objetivos Específicos

- I. Evaluar el porcentaje de humedad, materia seca (MS), cenizas, proteína bruta (PB) y fibra total (FT).
- II. Determinar la concentración de macrominerales (P, Mg, Ca y K) y microminerales (Fe, Mn y Zn).
- III. Evaluar el porcentaje de grasa cruda (GC), grasa saturada, ácidos grasos totales (AGT), ácidos grasos mono-insaturados (MUFA) y ácidos grasos poli-insaturados (PUFA).
- IV. Determinar mediante cromatografía de gas el perfil de ácidos grasos.
- V. Evaluar el efecto de TT en los niveles de tripsina.

REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia de la soya en el mundo y el trópico

El cultivo de la semilla de soya es el sexto cultivo con mayor producción en el mundo, superado sólo por la caña de azúcar, el maíz, el trigo, el arroz y la papa (Valencia & Ligarreto 2010). Del mismo modo, esta leguminosa es considerada como una de las cinco semillas sagradas para la comunidad China, debido a su alto valor nutritivo y aumento en la calidad de vida. Se conoce como “el alimento del futuro”; ya que la importancia de este cultivo radica en su alto contenido en proteína, grasas, alta proporciones de ácidos grasos insaturados y aminoácidos esenciales adecuados para la alimentación humana y animal. (Valencia & Garzón, 2004). En el mismo orden cabe destacar que en los cotiledones de la semilla de soya se encuentra almacenado el aceite y la proteína que son los elementos de mayor interés nutritivo e industrial (Salmerón et al., 2010).

Hay que tener en cuenta que la soya es reconocida como un cultivo sensible al fotoperiodo que ha sido adaptada a latitudes templadas por medio de mejoras genéticas, lo cual ha hecho posible que se incorporen genes de adaptación en diversas variedades para su cultivo en el trópico; permitiendo asimismo aumentar el área de siembra al superar el limitante del fotoperiodo (Beaver et al., 2016). Se pone en evidencia que aún en las condiciones adversas de clima y suelo, es posible aprovechar las cualidades nutricionales de la soya en la alimentación del ganado lechero, a un costo relativamente bajo, sin la necesidad de una alta inversión en maquinarias y equipos que representa la producción de semilla de soya en el trópico (Tobía & Villalobos, 2004).

Dicho de otra forma, los productores buscan mejorar la calidad de vida y rendimiento de las vacas lecheras por medio de la introducción de leguminosas que aporten más energía y proteína que las gramíneas comunes (Tobía et al., 2006). Luego de evaluar favorablemente varias leguminosas, se podría establecer que la soya forrajera [*Glycine max* L. (Merr.)] podría ser una buena alternativa por su alto rendimiento forrajero con buena calidad nutricional y facilidad para henificación mecánicamente. Igualmente, podría servir como un cultivo multiuso al prestarse para producir forraje de calidad o también para la producción de grano destinado al uso industrial o a la alimentación (Aponte, 2015).

3.2 Composición química de la semilla de soya

La composición de la soya cambia dependiendo de la variedad del grano, de las condiciones de crecimiento, así como del estado en que se encuentra. La concentración de proteína, grasa, carbohidratos y cenizas es menor en el grano fresco debido a que no se ha desarrollado completamente; afectando su composición (Chavarría, 2010).

3.2.1 Proteína

La proteína de la semilla de soya está almacenada en partículas esféricas de diámetros que varían entre 2 y 20 μm llamadas cuerpos proteicos o aleuronas, los cuales son casi proteína pura. A su vez el aceite se almacena en pequeñas partículas también esféricas de 0.3 a 0 μm de diámetro llamada esferosomas. Esta estructura ordenada se desintegra y los constituyentes se fraccionan durante el proceso comercial para la obtención de variedades de productos proteicos (Johnson, 1985).

La calidad del grano de soya destinado a la elaboración de alimentos está relacionada con su contenido de aceite y proteína. La concentración relativa de nitrógeno y azufre del grano

determina el valor nutricional de la proteína. La concentración proteica de la soya es mayor que en todas las legumbres. Pero no sólo es importante por su cantidad sino también por la calidad de la proteína. Generalmente la proteína proveniente de los alimentos de origen vegetal tiene un bajo contenido de aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína). A diferencia de estos, la soya contiene estos aminoácidos en cantidades suficientes (Ridner, 2006).

3.2.2 Lípidos

El aceite de soya es rico en ácidos grasos poli-insaturados, (tiene un alto nivel de insaturación). Además, se destaca por su elevado contenido linoléico (51%). Aproximadamente entre el 1.5 al 2.5% de los lípidos presentes en la soya, se encuentra en forma de lecitina. Ésta tiene una función de emulsionante al incorporarse a formulaciones de alimentos. Los ácidos grasos se componen de cadenas de átomos de carbono unidos a átomos de hidrógeno, donde en su unión química se encuentra almacenada la energía que utiliza el animal (Meléndez, 2015).

Otro compuesto de interés en la fracción lipídica de la soya son los tocoferoles, los cuales actúan como antioxidantes naturales y tienen funciones de vitamina E. A escala industrial se utilizan para retardar la aparición de rancidez en alimentos ricos en grasas.

3.2.3 Carbohidratos

Los carbohidratos que constituyen la soya se clasifican en solubles e insolubles. Los solubles son mayoritariamente oligosacáridos: rafinosa, estaquiosa y verbascosa; y polisacáridos solubles, que comprende la fibra soluble (principalmente pectinas). Mientras que los carbohidratos insolubles son hemicelulosa, celulosa, lignina, pectinas insolubles y otros polisacáridos no digeribles, por lo que constituyen la fibra dietaria insoluble de la soya. El aporte de fibra alimentaria de la semilla de soya es de 9%, que principalmente consiste en

lignina, celulosa y hemicelulosa (arabinogalactanos). La cáscara de la soya contiene la mayoría de la fibra de la semilla, con un equivalente de un 87% (Ridner, 2006).

Entre los carbohidratos presentes en la soya, se destacan los galacto-oligosacaridos (GOS), con una concentración por grano superior que a las de otras legumbres. Estos carbohidratos son solubles; donde se destacan la rafinosa y la estaquinososa (Luna, 2007). Es bueno destacar que los carbohidratos son el grupo mayoritario de nutrientes ya que proveen la fuente más importante de energía en las raciones destinadas a la alimentación del ganado lechero. Los microorganismos en el rumen digieren los carbohidratos y los rumiantes asimilan los productos finales de fermentación como fuente directa de energía por las células vegetales o los transforman en el hígado a nuevos azúcares. Los microorganismos en el rumen transforman los carbohidratos en ácido acético, propiónico y butírico (González, 2014).

3.2.4 Vitaminas y Minerales

Las vitaminas y los minerales son micronutrientes esenciales. Las vitaminas que componen la soya son, fundamentalmente: tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), niacina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, caroteno (provit-A), y ácido ascórbico (vitamina C), (Tabla 1).

La soya contiene, además, una amplia gama de minerales (calcio, hierro, cobre, fósforo y zinc) que se refleja, en un alto valor de cenizas (5 al 6%). Sin embargo, la biodisponibilidad de estos minerales disminuye por la presencia de fitatos. Los fitatos (myo-inositol-hexafosfato) son anti-nutrientes encontrados en semillas de plantas, que causan problemas en la biodisponibilidad de los minerales mencionados anteriormente. En la semilla de soya se destacan porcentajes de 0.1-1.8 de fitatos (López et al., 2009). Esta desventaja se ve notablemente eliminada en alimentos de soya fermentados o fortificados con minerales.

Tabla 1. Vitaminas y minerales en productos derivados de la soya.

Vitaminas	Frijol	Germinados	Harinas	Tofu	Leche de Soya
Tiamina g/g	11.0-17.5	11.9-21.9	11.0-15.0	3.9	0.8
Beta caroteno g/g	0.2-0.4	---	----	----	7.5
Riboflavina g/g	2.0-2.3	4.8-7.0	4.0-4.4	3.7	1.1
Niacina g/g	20.0-25.9	29.9-48.0	20.3-29.1	5.5	2.5
Ácido pentatenico g/g	12.0	18.8-34.4	47.0-50.6	----	----
Piridoxina g/g	6.4	14.1-17.7	----	----	----
Biotina g/g	0.6	1.1-1.7	----	----	----
Ácido fólico g/g	2.3	3.7	0.8-0.9	----	----
Ácido ascórbico mg/g	0.2	0.4	----	----	21.6
Minerales					
Calcio %	0.16-0.47	0.40	0.42-0.64	0.80	0.76
Fósforo %	0.42-0.82	----	0.60	0.8-1.0	0.15
Magnesio %	0.22-0.24	----	----	----	----
Zinc mg/kg	37	----	----	----	----
Hierro mg/kg	90-150	100	110-160	105	68
Manganeso mg/kg	32	----	----	----	----
Cobre mg/kg	12	----	----	----	----

Adaptado de: Luna, 2007

La soya también contiene diferentes cantidades de vitaminas y minerales dependiendo de su estado de maduración. Aunque en general sus productos son una fuente abundante de estos nutrimentos (Luna, 2007).

3.3 Factores que afectan la calidad de la semilla de soya

La soya al igual que muchos otros tejidos producen compuestos bioactivos con propiedades tóxicas y/o anti-nutricionales que alteran el metabolismo corporal de los

consumidores y ejercen un impacto negativo en la calidad nutricional de la semilla, posiblemente importante como defensa química contra herbívoros y patógenos, estos en ocasiones pueden presentar problemas en el hombre y animales (Becker-Ritt, Mulinari, Vasconcelos, & Carlini, 2004).

Los factores que afectan la calidad de esta leguminosa deben eliminarse con un tratamiento térmico, pero un calentamiento excesivo trae consigo cambios muy dañinos en la proteína que se reflejan en la reducción de la relación de eficiencia proteica. Esto ya que la humedad del grano, la temperatura y la duración de los procesos establecen variaciones en la calidad nutricional del producto final. El exceso de calor provoca reacciones químicas que trae consigo la reacción de Maillard surgiendo la formación de diversos compuestos donde se destaca la melanoidinas que se aprecia en el alimento por su color amarillo claro hasta café oscuro o negro, además de otros compuestos aromáticos (Pastoriza, 2013). En consecuencia disminuye la disponibilidad de carbohidratos y aminoácidos esenciales (González et al., 2014). Para evitar que esto suceda se requiere optimizar las condiciones de tiempo temperatura para eliminar dichos factores y conserva al máximo el valor nutricional (Gu, Pan, Sun, & Qin, 2010).

Por otra parte, los inhibidores de tripsina son sustancias de carácter proteico, que se encuentran en las leguminosas. En presencia de una proteasa y un sustrato producen una notoria disminución en la velocidad de la reacción catalizada por la enzima. En la soya se encuentran diferentes tipos de estos inhibidores, de los cuales se destacan el de Kunitz y el Bowman-Birk, que constituyen aproximadamente un 15% de las proteínas de la semilla (Quicazan & Caicedo, 2012). El inhibidor de Kunitz es una cadena polipéptica única con una masa molecular de alrededor de 20,000 g/mol y dos puentes disulfuro que es dirigido principalmente contra tripsina. Por otra parte, el Bowman-Birk es un inhibidor que muestra una masa molecular de 6,000 g/mol- 8,000g/mol con una alta proporción de enlaces disulfuro y tiene la capacidad de

inhibir la quimotripsina, así como tripsina simultáneamente en sitios de unión independientes (Becker-Ritt et al., 2004).

Esta acción tiene grandes implicaciones en el valor nutricional de la soya tanto para el hombre como para los animales. El páncreas, glándula productora de la mayoría de las enzimas digestivas, se afecta notablemente y se evidencia su hipertrofia ante la ingestión continua de soya o derivados con el inhibidor activo (Quicazan & Caicedo, 2012).

3.4 Usos industriales de la semilla de soya

Además de su utilización en la alimentación ganadera, la industria alimentaria también emplea la soya para una amplia variedad de productos (Du, Tan, Mintz, & Wilfred, 2008). La soya es utilizada de forma directa e indirecta en el procesamiento de alimentos. Cerca del 6% de la semilla de soya se usa directamente como alimento, los cuales pueden ser consumidos como vegetales, o triturados e incorporados en tofu, tempeh, leche de soya y salsa de soya (WWF, 2014).

El aceite de soya tiene muchas aplicaciones en la industria de alimentos. Se emplea para la elaboración de aceites de vegetales mixtos, margarinas, mayonesas, aderezos para ensalada y mantecas vegetales. Entre los usos industriales económicamente viables están los revestimientos de papel, los adhesivos de chapa de madera, las resinas alquídicas, la tinta de impresión y los productos oleo-químicos. Hoy, se predice un crecimiento inminente del uso de la soya en adhesivos, plásticos, materiales de construcción, fabricación de tintas para periódico, pinturas y en la fabricación de biodiesel como una nueva fuente de combustible renovable (Johnson & Myers, 1995). Se conoce como biodiesel al éster (metílico o etílico) de un ácido graso de origen vegetal, siendo los más empleados el de soya, colza, girasol y maní (Chiariotti, Rinaldi, & Villaluce, 2011)

Cerca del 1.5% a 2.5% del aceite presente en el grano se encuentra en forma de lecitina, la misma es un fosfolípido que se separa del aceite a través de un proceso de desgomado y se vende como un producto de alto valor comercial. Esta última es un emulsificante muy eficaz por lo cual se adiciona en pequeñas cantidades a: chocolates, galletas, y productos de panificación, entre otros, para asegurar una mezcla homogénea de todos sus ingredientes (Luna, 2007).

3.5 Estructura de las oleaginosas

La semilla de soya es una dicotiledónea que está formada por un embrión, constituido por un eje embrionario y dos cotiledones conformados por células alargadas llenas de cuerpos proteicos esféricos y numerosos esferosomas de aceite y una fina cáscara o tegumento cubre el embrión. El tegumento externo es conocido también como capa protectora. El mismo está formado por tres capas: epidermis, hipodermis y capa interna de parénquima. La capa protectora está marcada externamente por el hilo que varía de oval a lineal. Al final del hilo se observa un micrópilo y al otro lado la rafe o callo. Un atributo importante del hilo es que presenta diversas coloraciones y es utilizado a nivel de laboratorio como una característica favorecedora en la identificación de las variedades de semilla de soya (Benkenstein, 2009).

Cabe señalar que los cuerpos proteicos varían de tamaño dependiendo de la variedad de la semilla oleaginosa. En el caso de la soya el tamaño promedio oscila entre 8 a 10 μm , pero también se han reportado variaciones entre 2 y 20 μm . Estos cuerpos proteicos contienen aproximadamente entre el 60 y el 70 % de la proteína total presente en las semillas oleaginosas. Mientras que los cuerpos lipídicos, también conocidos como oleosomas o esferosomas son el sitio principal de reserva de lípidos, tanto en las semillas oleaginosas como en los frutos oleaginosos.

La existencia de un solo tipo de endospermo en el que los gránulos de almidón quedan encerrados en una envoltura formada por proteínas y carbohidratos no estructurados es otra característica de la semilla de soya. La estructura celular de la misma es muy abarcadora de manera que se destaca el predominio de la matriz proteica sobre los gránulos en toda la anatomía de la semilla (Martínez, 2001). El citoplasma se caracteriza por la presencia de lípidos y proteínas, pero a diferencia, las paredes celulares que rodean la célula son compuestas de celulosa, hemicelulosa y lignina, además de pectina.

3.5.1 Procesos de extracción (solvente, extrusión y prensado)

El aceite extraído de la semilla de soya se conoce como aceite crudo de soya, esto se refiere a la remoción de los aceites disponibles en las semillas oleaginosas mediante extracción mecánica o química. En ambos métodos de extracción, las semillas deben ser sometidas a un proceso de secado para estandarizar su contenido de humedad del 10 al 11%. Luego son limpiadas y por último son laminadas. El proceso de laminado consiste en exponer el aceite localizado en el interior de la célula mediante la ruptura de las paredes celulares. Este proceso permite la fácil extracción del aceite de soya de las hojuelas.

La extracción mecánica se refiere al proceso de molienda de las oleaginosas donde básicamente el aceite disponible en ellas es removido usando prensas (extrusor) para exprimir el aceite y dejar la pasta prensada con un contenido de aceite residual equivalente a 5-7%. Este método fue llamado prensado completo (a baja capacidad) y ha sido utilizado durante muchos años en la industria de extracción de aceites (Latimori, Kloster, & Garis, 2006).

Grasso (2013), establece que el método de extracción por solventes orgánicos es la principal técnica para la extracción del aceite crudo en la semilla de soya. En este proceso se realizan sucesivas extracciones del material oleaginoso previamente quebrado, laminado,

molido o prensado mediante el lavado a contracorriente con hexano. El hexano es un excelente disolvente, debido a su bajo punto de ebullición (63-69 °C), aunque es extremadamente tóxico e inflamable. Después de extraerse el aceite de la harina, esta es llevada a un tostador y el aceite es sometido a un proceso de desolventización para recuperar el solvente. El hexano es removido del aceite por evaporación y finalmente destilado al vacío.

El aceite crudo obtenido a partir de extracción por solventes contiene cantidades variables y relativamente reducidas de impurezas tales como ácidos grasos libres, fosfolípidos, sustancias gomosas o mucilaginosas, cuerpos pigmentados, fracciones de proteínas, tocoferoles, esteroides, carbohidratos, cetonas y aldehídos. Estas impurezas pueden estar en una solución real o en suspensión coloidal. Algunas de ellas afectan la calidad del aceite para su uso doméstico y por lo tanto es obligatorio eliminarlas. Las impurezas pueden ser de dos tipos: insolubles y solubles en aceite.

Las impurezas insolubles consisten en fragmentos de semillas, excedentes de humedad y una fracción cerosa que hace que el aceite refrigerado se vea turbio. Las impurezas solubles en aceite son más difíciles de extraer. La intención de las diferentes operaciones del proceso de refinación es excluir estas impurezas indeseables hasta el grado deseado con el menor efecto perjudicial sobre la calidad final del aceite evitando pérdidas mínimas de producto.

3.5.2 Factores que influyen en la composición de ácidos grasos en la semilla de soya

Los componentes de la semilla de soya varían con el genotipo de la planta, las condiciones medio ambientales (Cuniberti & Herrero, 2006). Un ejemplo de esto sería que la soya que crece en climas más cálidos tienen un contenido más alto de ácidos grasos saturados que aquellos que crecen en climas más fríos, que tienen un contenido de ácidos grasos

insaturados altos. No obstante, la temperatura posee un mayor efecto sobre el porcentaje de aceite sintetizado que sobre el de proteína (Cuniberti & Herrero, 2006).

En el caso de la proteína y el aceite, un estudio determinó que el contenido de proteínas en el grano aumenta en relación directa con fechas de siembra tardías y que la presencia de aceite es mayor en las fechas de siembra temprana (Ridner, 2006).

3.6 Sub-productos de procesamiento de la semilla de soya

Los subproductos oleaginosos son los residuos sólidos resultantes de la extracción industrial del aceite de la semilla de soya. Estos residuos son denominados “expellers” cuando provienen de la extracción por extrusado–prensado y harinas cuando la extracción se realiza en base a la aplicación de solventes. Estos y otros subproductos tales como la cáscara de soya, rastrojo y sojilla, son muy populares y tradicionales en la alimentación animal, también se pueden utilizar en las dietas del ganado lechero, pero no siempre se conocen de sus alcances y limitaciones (Gallardo & Gaggiotti, 2003).

3.6.1 Cáscara

También conocida como cascarilla de soya, son las cubiertas exteriores de la semilla de soya, las que se desprenden o recuperan durante el procesamiento de extracción de aceite y estas quedan disponibles para ser utilizadas, en algunos casos pueden recibir tratamientos térmicos. La incorporación de este a la dieta de los rumiantes, sirve en primer lugar como relleno y en segundo lugar como fuente de energía y proteínas (Castro, 2005). Poseen buen valor nutritivo derivado de su alto contenido de fibra de elevada digestibilidad ruminal. Por esas características puede ser empleado como fuente de fibra fermentable (energía) y para reducir el impacto de las

dietas con muchos granos. Los valores máximos recomendados de inclusión en las dietas no deberían exceder los 6 kg/animal/día (Gallardo & Gaggiotti, 2003).

3.6.2 “Expeller” y harina

La pasta de soya es un subproducto del procesamiento de la semilla de soya obtenido de la molienda de las hojuelas después de haberle extraído el aceite por un método de extracción mecánica o por solvente. La pasta de soya se conoce con diferentes nombres. En países de Sur América se le llama torta de soya; mientras que en países de Centro América y la República Dominicana se le denomina harina de soya. Existen dos clasificaciones generales de la pasta de soya. La pasta de soya de 44% de proteína (con cascarilla) y la pasta de soya del 48% de proteína, también llamada de alta proteína, que no contiene cascarilla. En la industria de alimentos para animales la más utilizada es la de alta proteína.

Son los subproductos (harina de soya y “expeller”) que quedan después de la extracción del aceite, empleados como fuente proteica de excelente calidad para la alimentación de animales. Al igual que la semilla de soya poseen una proteína de alto valor biológico (lisina y metionina) aunque su calidad está determinada por el tipo de extracción.

Si se extrae el aceite por solvente da como resultado la harina de soya, la cual posee mayor concentración proteica y menor concentración de lípidos y fibra. Mientras que en el método de extrusado, luego del prensado surge el “expeller” con un contenido de aceite que oscila entre 5 y 7%. En términos generales, el método de extrusado es más ineficiente que el método de extracción por solvente al momento de la extracción del aceite en la semilla de soya, por ende el “expeller” posee mayor valor energético. (Latimori et al., 2006).

3.6.3 Sojilla

Es el descarte de la clasificación de la semilla de soya, este subproducto es uno de los más interesantes desde el punto de vista nutricional y puede incorporarse en las dietas con las mismas consideraciones que la semilla de soya entera, debido a que sigue siendo un alimento de tipo "concentrado". No obstante, es necesario tener a mano un análisis de calidad donde se conozcan las composiciones químicas y los valores nutritivos ya que puede haber una gran variabilidad del valor energético-proteico principalmente por los elementos extraños que puedan estar acompañados a la semilla como, por ejemplo: semillas de malezas, tierra y restos de la planta. En la mayoría de los casos no es necesario moler el material, ya que casi todas las semillas están partidas en trozos muy pequeños.

3.6.4 Rastrojo

Es el residuo después de la cosecha del producto principal, que en este caso sería la semilla de soya. Es bueno destacar que su valor nutritivo es bajo por lo tanto si se utiliza como principal ingrediente no permite abastecer los mínimos requerimientos de mantenimiento de alimento para el ganado, aunque posee cantidades considerables de fibras digeribles que si se combina adecuadamente puede ser un buen ingrediente. Este tiene la ventaja de que el animal lo puede consumir directamente en el área del cultivo o bien puede ser proporcionado en comedero, donde sería recomendable molerlo o picarlo para su mejor consumo.

3.7 Usos de sub-productos de la semilla de soya en la alimentación animal

La pasta de soya es una fuente de proteína cuyo uso tiene como objetivo el suministro de aminoácidos a los animales. Existen especificaciones básicas para la composición de la pasta de soya (Bailoni et al., 2004), aunque su composición nutricional depende mucho de la

composición de la semilla de soya de donde proceda y de su procesamiento. El análisis nutricional de una pasta de soya se puede realizar de una manera rápida y sencilla mediante la utilización del análisis de *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS) o utilizando los diferentes procedimientos desarrollados por la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC, 2000).

Algunos productos y subproductos del cultivo de soya son muy populares y tradicionales en la alimentación animal, el poroto (la semilla entera) y el residuo de extracción de aceite (harina, torta y “expeller”) son ingredientes básicos en los concentrados de aves, cerdos y terneros. Estos y otros productos, como el forraje (verde o seco) también se pueden utilizar en las dietas del ganado lechero, pero no siempre se conocen sus alcances y limitaciones (Gallardo & Gaggiotti, 2003).

3.7.1 Composición química y el valor nutritivo de diferentes sub-productos

Tabla 2. Promedios de la composición química y valor nutritivo de diferentes formas del cultivo de soya

Ítem	Semilla cruda	Sojilla	“expeller”	Cáscara	Planta (ciclo cumplido)	Planta (estado vegetativo)	Rastrojo
%							
Materia Seca	87.3	90.6	89.2	86.9	84.2	22.0	86.6
Proteína Bruta	32.5	25.6	44.5	16.8	24.1	22	6.9
Fibra Neutra	23.2	50.3	15.0	62.3	52.3	45	72.2
Fibra Acido	18.7	38.7	8.9	54.2	41.9	30.0	61.9
Lignina	6.4	8.5	0.7	1.2	12.0	8.0	11.8
Cenizas	6.6	12.7	6.4	12.0	6.2	8.9	16.2
Energía	3.6	2.58	3.29	2.45	2.22	2.38	0.98
Lípidos	17.8	10	2.5	3.5	13.7	2.5	1.2

Adaptado de: INTA, 2012

En la Tabla 2, se presenta un resumen de la composición química de la planta y la semilla de soya durante diferentes etapas de cultivo. Cabe destacar que la composición química varía dependiendo del estado en que se encuentre.

Los nutrientes suplen las necesidades energéticas, para cubrir la síntesis de tejidos y para la regulación en el metabolismo del organismo. La soya es una importante fuente de proteínas y aceite y, por lo tanto, un alimento con alto valor nutricional. La composición del grano es, en promedio: 40% proteína, 25% hidratos de carbono, 20% lípidos, 10% humedad y 5% cenizas (Luna, 2007). En comparación con otros alimentos de origen vegetal, la soya posee proteínas de alta calidad (Ridner, 2006).

3.7.2 Composición de ácidos grasos

El aceite de la semilla de soya, se encuentra entre los aceites vegetales más comunes, debido a que contiene una cantidad significativa de ácidos grasos insaturados: ácido linolénico (omega 3), ácido linoleico (omega 6), ácido oleico (omega 9); y también tocoferoles y triacilgliceroles como los mayores componentes de los lípidos totales de la soya (Jokic et al., 2013).

Los ácidos grasos son compuestos orgánicos formados por una cadena hidrocarbonada y un grupo carboxílico que son los que les otorgan las propiedades físico-químicas a los aceites. Estos a la vez se pueden clasificar en ácidos grasos saturados e insaturados (Tabla 3). La distinción entre ellos radica en que los saturados no poseen dobles enlaces mientras que los insaturados poseen dobles enlaces. Estos últimos pueden ser ácidos grasos mono-insaturados (MUFA) o ácidos grasos poli-insaturados (PUFA), según presenten uno o varios dobles enlaces (Nasiff & Meriño, 2003).

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de la semilla de soya.

Ácidos grasos	Composición (%)
Saturados	
C12:0 (ácido láurico)	Trazas
C14:0 (ácido mirístico)	Trazas
C16:0 (ácido palmítico)	13
C18:0 (ácido esteárico)	4
C20:0 (ácido araquidónico)	Trazas
Insaturados	
16:1 (ácido palmitoleico)	Trazas
18:1 (ácido oléico)	18
18:2 (ácido linoléico)	55
18:3 (ácido linolénico)	10

Adaptado de: Graef et al., 2009

4. Experimento I. Determinación de la composición nutricional y perfil de ácidos grasos de la semilla de soya [*Glycine max* (L.) Merr.], tostada a tres niveles de temperatura y un control

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando tres variedades de semilla de soya (PR 1-1, PR 16-2 y PR 22-3) desarrolladas por el programa de Fitomejoramiento de la Estación Experimental de Isabela (EEA), Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. Liberadas en el 2016 por los investigadores Beaver J., Vélez, G., y Valencia, E. Además, se incluyó Hinson Long Juvenile (HLJ) la cual fue desarrollada por la estación experimental de agricultura en la Universidad de Florida en el 2001.

Se establecieron dos siembras para la cosecha de semillas, la primera se realizó en marzo de 2016 y se cosechó en mayo de 2016, mientras que la segunda se sembró en julio de 2016 y se cosechó en septiembre de 2016. Ambas siembras se realizaron en la Estación Experimental de Isabela, de la UPRM en un Oxisol de la serie Coto. Las mismas se establecieron en hileras de 0.75 cm y 10 cm entre plantas. El diseño fue completamente al azar (DCA), mientras que las unidades experimentales fueron 0.25 hectáreas con tres repeticiones. Estas se mantuvieron libres de malezas y al llegar a su madurez fisiológica (18% secado del grano) se cosecharon mecánicamente. Posteriormente, las variedades cosechadas se secaron en mesas al aire libre por un periodo de dos semanas y luego almacenadas en un cuarto frío (4°C).

De los lotes de cada variedad almacenada se tomaron aleatoriamente muestras de 4 Kg. Estas muestras se limpiaron manualmente removiendo todo material inerte, y las semillas pequeñas y dañadas se eliminaron pasando por un tamiz de 4-mm. Luego de la limpieza manual, se tomaron muestras representativas de 500g de cada variedad, las cuales se

almacenaron bajo refrigeración nuevamente. Las muestras de soya se tostaron en un horno de convección a tres tratamientos térmicos (TT) 115, 135 y 145 °C por 30 minutos y un control. Se emplearon tres bandejas de aluminio por tratamiento para cada variedad, siguiendo la metodología descrita por Rafiee-Yarandi, Ghorbani, Alikhani, Sadeghi-Sefidmazgi y Drackley (2016).

Luego del tratamiento térmico establecido, se almacenaron en bolsas de baja densidad a temperatura ambiente, a excepción del control que se mantuvo refrigerado para evitar reacciones enzimáticas. Luego, se procedió a la molienda utilizando un molino de la marca Wiley y pasado por un tamiz de 1-mm de porosidad. Estas muestras se guardaron en bolsas de baja densidad y luego fueron utilizadas para los análisis químicos.

4.1.1 Composición química

Los métodos para la determinación de la composición química se presentan en la Tabla 4. La determinación del porcentaje de materia seca, cenizas, nitrógeno (N) y minerales se llevó a cabo en el laboratorio químico de la Estación de Investigación en Agricultura Tropical del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (TARS-USDA), en Mayagüez, PR. Mientras que la determinación de fibra total y grasa cruda fue realizada en el laboratorio Dairy One, New York.

4.1.2 Perfil de ácidos grasos

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó en un laboratorio certificado, Dairy One en Nueva York. El cual es especializado en análisis nutricionales en productos de alimentación animal y forraje. El análisis se realizó mediante una técnica estandarizada por la cual se determinó la concentración de metil ésteres de los ácidos grasos (FAME's) empleando

cromatografía de gas (ISO, 1978). Una alícuota de la muestra se mezcló a una proporción 1: 1 con ácido oxálico 0.06 M que contenía 100 ppm de ácido trimetilacético (estándar interno). Luego las muestras se inyectaron en una cromatografía de gas (*Perkin Elmer Autosystem XL*) que contenía una columna con las siguientes especificaciones: 2m x 2mm *Tightspec ID*, 4% *Carbowax 20M* fase en 80/120 *Carbopack B-DA*.

Tabla 4. Métodos empleados para el análisis de composición química de la semilla de soya.

Determinación	Método	Descripción
Humedad	AOAC 925.04	Deshidratación a 100-105 °C en horno de convención hasta peso constante por 3 horas
Materia seca	NFTA 2.2.2.5	Materia seca después de secado al horno por 3 horas a 100-105 °C
Cenizas	AOAC 942.05	Incineración a 550 °C, por 12 horas
N	Kjeldahl AOAC 992.23	Kjeldahl: Digestión ácida y destilación de nitrógeno con titulación
Minerales	(EPA-6010b)	Determinados por ICP-AES
Fibra total	AOAC. 985.29	Digestión ácido-base y calcinación
Grasa cruda	AOAC 2003.05	Por medio de soxhlet y hexano como solvente

4.1.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental fue un diseño completamente al azar (DCA). La data se analizó utilizando el paquete estadístico de SAS versión 9.4[®] (SAS, 2009). El modelo estadístico fue un

factorial de dos x cuatro x cuatro (FS x V x TT) con tres repeticiones. Cuando se encontraron diferencias significativas, las medias se separaron mediante una prueba de diferencia mínima significativa (Fisher LSD), (SAS, 2009).

También se realizaron contrastes “posteriori” ($P < 0.05$) con los diferentes niveles térmicos: tratamientos térmicos (CON) versus control (SIN); y temperatura mínima de tostado ($115\text{ }^{\circ}\text{C}$) (MIN) versus temperaturas máxima de tostado ($135\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $145\text{ }^{\circ}\text{C}$) (MAX). También, se realizaron contrastes para el efecto de variedad donde se compararon las variedades liberadas en Puerto Rico (PR 1-1 y PR 16-2) con la no liberada (PR 22-3) y la HLJ (proveniente de la Universidad de Florida), (HLJ versus PR 22-3, PR 1-1 y PR 16-2, PR 22-3 versus PR 1-1 y PR 16-2, PR 22-3 versus HLJ).

4.2 RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.2.1 Análisis químicos

Tabla 5. Análisis de varianza para el porcentaje de materia seca, cenizas, proteína bruta y fibra total en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Fuentes de variación	MS	Cenizas	PB	FT
Fechas de siembra (FS)	*0.0006	0.1142	*0.0071	0.5345
Variedades (V)	*0.0001	0.8567	*0.0155	0.1920
Tratamiento térmico (TT)	*0.0001	0.9708	0.8122	0.1469
# V x Δ TT	*0.0247	0.0673	0.9967	0.8231
§FS x # V x Δ TT	0.8232	0.0627	0.1210	0.1200

*Significativamente diferente $P < 0.05$

§FS=Fecha de siembra

#V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT=Tratamiento térmico y control

Materia seca (MS), Proteína bruta (PB), Fibra total (FT)

No se encontró interacción triple para V x TT x FS para ninguna de las variables. Ni tampoco interacción V x TT ($P>0.05$) para las variables proteína bruta (PB), ceniza y fibra total (FT), excepto para el porcentaje materia seca (MS) ($P<0.05$). Sin embargo, si se encontró un efecto de variedad sobre PB ($P<0.05$). Mientras que las variables MS, PB y FT presentaron diferencias significativas en fechas de siembra (Tabla 5).

En la interacción entre V x TT para el porciento de MS, se observó que a medida que aumentaba la temperatura del tratamiento térmico también aumentaba el porcentaje de MS. La PR 1-1 presentó mayor porcentaje de MS, mientras que HLJ fue el que menos porcentaje de MS presentó (Tabla 6).

Tabla 6. Interacción entre variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya por tratamiento térmico para el porciento de materia seca evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Variedades	Control	115 °C	135 °C	145 °C
	%			
PR 22-3	91.70	93.93	94.03	95.03
PR 1-1	92.75	93.98	95.18	95.88
PR 16-2	92.43	94.00	94.85	96.08
^Δ HLJ	90.78	92.80	94.40	94.95

[§]E.E 0.2014

^ΔHLJ=Hinson Long Juvenile, [§]E.E=Error estándar

Como era de esperarse, para el porcentaje de MS se observó un incremento a medida que el TT incrementa. Observándose veracidad en los resultados obtenidos, ya que la MS es el residuo que queda después del análisis de humedad. Hallazgos iguales encontraron Ganesh & Grieve (1990), llegando a la conclusión que para los TT establecidos hay un incremento en la MS y por ende una disminución en el porciento de humedad.

Un caso bien peculiar se observó para el porciento de FT (Tabla 7), el contraste SIN vs CON, varió significativamente observándose un incremento de 2.07 unidades porcentuales. González et al. (2014), reportaron un 19.0 y 23.3% de FT para soya sin tostar y tostada, respectivamente. Sin embargo, se observa un incremento de 4.3%, duplicando el porcentaje encontrados en este estudio.

Moretto (2015), en su estudio establece que el comportamiento de esta variable se debe a que cuando se le aplica un TT algunas fracciones de la fibra tiende a solubilizarse ocasionando que los almidones y polímeros de carbohidratos modifiquen sus propiedades. Este comportamiento resulta favorable debido a que la FT contribuye al buen funcionamiento ruminal (llenado ruminal, estímulo de las contracciones y balance de pH en el rumen). Además de ser el componente fundamental de las raciones. Sin embargo, la FT posee la desventaja de que si no se realiza un balance adecuado podría limitar el contenido energético y disminuir el potencial de ingestión del animal (Hernández, 2010).

Tabla 7. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porciento de cenizas, fibra total evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	* Cenizas	P valor	*FT
		%		
¹ Sin vs. ² Con	0.8841	5.68 vs 5.68	**0.0347	19.37 vs 21.44
³ Min vs. ⁴ Max	0.8652	5.68 vs 5.68	0.3861	20.88 vs 21.72

*Los resultados están presentados en base seca

** Significativamente diferente $P < 0.05$, ¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C), ⁴Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C), Fibra total (FT)

No se encontró una diferencia significativa entre variedades en el porcentaje de cenizas (5.68%), (Tabla 7). Estos valores coinciden con los valores esperados según INTA (2012) afirman que el porciento de cenizas en la semilla de soya no puede exceder un 10%. Si él % de

cenizas sobrepasa un 10% esto se traduciría a una posible contaminación de las muestras con tierra u otra materia orgánica. Por ende, esto afectaría el porcentaje de micro y macrominerales.

La Tabla 8 presenta un mayor porcentaje de PB en PR 22-3, superando por 2.65 % a las demás variedades, que a su vez presentaron valores parecidos entre sí (40.71%). Estos valores son similares a lo reportado por Benavidez, González, Fresoli, Santos, y Soro (2007) para diversas variedades de soya. Por otra parte, valores inferiores se observaron en los publicados por Solano, Fonseca y Santiesteban (2012) para cuatro variedades de soya (40 a 41.1%). De igual forma, en ambos estudios se apreció diferencias significativas ($P < 0.05$) en las mayorías de las variedades empleadas, coincidiendo de igual forma a las variabilidades encontradas en este estudio. Piper & Boote (1999), establecieron que esta variabilidad se debe al fotoperíodo, estrés híbrido o a altas temperaturas durante el llenado de las semillas.

El análisis de contraste (Tabla 8), destaca que PR 22-3 presentó mayor porcentaje de PB al ser contrastada con HLJ, siendo esta última superada por 2.02 %. Por otra parte, para el PR 22-3 versus PR 1-1 y PR 16-2 se observa diferencia significativa de 2.05% en FT. Estas observaciones coinciden con la publicación de Aponte et al. (2015) donde observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre diversas variedades de soya analizada.

Tabla 8. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje materia seca y proteína bruta evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*MS	P valor	*PB	P valor	*FT
				%		
HLJ vs 22.3,1.1,16.2	**0.0001	93.23 vs 94.15	0.9540	41.34 vs 41.38	0.5877	20.55 vs 63.13
22.3 vs 1.1,16.2	**0.0001	93.67 vs 94.39	**0.0019	43.36 vs 40.39	**0.0463	19.68 vs 21.73
22.3 vs HLJ	**0.0077	93.67 vs 93.23	**0.0430	43.36 vs 41.34	0.4352	19.68 vs 20.55

*Los resultados están presentados en base seca

** Significativamente diferente $P < 0.05$

Hinson Long Juvenile (HLJ), Materia seca (MS), Proteína bruta (PB), Fibra total (FT)

4.2.2 Macrominerales

No se encontró interacción triple para V x TT x FS. De igual modo, no se encontró una interacción ($P > 0.05$) entre V x TT para calcio (Ca), magnesio (Mg) y fósforo (P). Sin embargo, si se encontró una interacción ($P < 0.05$) en potasio (K). Por otra parte, todas las variables presentaron diferencias significativas para el efecto de variedad. Mientras, no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en TT y el efecto de siembra (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de varianza para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Fuentes de variación	K	Ca	Mg	P
Fechas de siembra (FS)	0.7649	0.6472	0.6062	0.7729
Variedades (V)	*0.0001	*0.0002	*0.0001	*0.0001
Tratamiento térmico(TT)	*0.0166	0.3372	0.4130	0.2656
#V x Δ TT	*0.0497	0.1871	0.1676	0.3784
§FS x V x Δ TT	0.3750	0.0812	0.0695	0.0750

* Significativamente diferente $P < 0.05$

§FS=Fecha de siembra

V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT = Tratamiento térmico y control

Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P)

En la Tabla 10, se aprecia la misma tendencia en la PR 1-1 y HLJ en donde se observa un notorio incremento de K al ser expuesta a una temperatura de 115 °C donde permanecen en un periodo de meseta hasta llegar a 135 °C, luego a 145 °C se inicia un declive. Sin embargo, las PR 22-3 y PR 16-2 responde de forma moderada al incremento de temperatura descendiendo drásticamente al llegar a 135 °C para luego permanecer en un periodo de meseta.

Tabla 10. Interacción entre variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya por tratamiento térmico para el porcentaje de potasio en base seca evaluado en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Variedades	Control	115 °C	135 °C	145 °C
	%			
PR 22-3	1.87	1.92	1.78	1.87
PR 1-1	2.13	2.53	2.48	2.26
PR 16-2	1.97	1.99	1.80	1.83
^Δ HLJ	1.75	2.11	2.24	1.95

[§]E.E 0.0861

^ΔHLJ=Hinson Long Juvenile

[§]E.E= Error estándar

Al contrastar los SIN versus CON, el K aumentó 0.23 unidades porcentuales con TT (Tabla 11), pero Ca, Mg y P, no se afectaron. Este comportamiento difiere a reportes publicados por Poulson & Wilkins (2018) quienes afirman que el porcentaje de K disminuyen en los alimentos al ser sometido a TT.

Al contrastar HLJ con PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 (Tabla 12) solo se encontró diferencia entre Mg (0.21 vs. 0.19%). Mientras que la PR 1-1 y PR16-2 mostraron mayores porcentajes de K superando por 0.26 % a la PR 22-3 y el HLJ (0.15%). Concentraciones similares se observaron para el % Ca y P para PR 1-1, PR 16-2 y HLJ. Comparando la PR 22-3 vs. PR 1-1 y PR 16-2, se encontraron porcentajes menores de K, Ca, Mg y P presentando porcentajes menores la PR 22-3 (Tabla 12). Entre la PR 22-3 versus HLJ, los valores de K, Ca, Mg y P fueron menores para la línea PR 22-3.

Tabla 11. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*K	P valor	*Ca	P valor	*Mg	P valor	*P
				%				
¹ Sin vs. ² Con	**0.0158	1.93 vs 2.16	0.0954	0.31 vs 0.32	0.3762	0.19 vs 0.20	0.4096	0.53 vs 0.54
³ Min vs. ⁴ Max	0.0684	2.13 vs 2.02	0.8221	0.32 vs 0.32	1.0000	0.20 vs 0.20	0.9624	0.54 vs 0.54

*Los resultados están presentados en base seca

** Significativamente diferente $P < 0.05$

¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³ Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C) ⁴ Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C)

Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P)

Tabla 12. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de potasio, calcio, magnesio y fósforo evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*K	P valor	*Ca	P valor	*Mg	P valor	*P
				%				
HLJ vs 22-3,1-1,16-2	0.6635	2.01 vs 2.03	0.3217	0.33 vs 0.32	**0.0029	0.21 vs 0.19	0.8676	0.54 vs 0.54
22-3 vs 1-1,16-2	**0.0002	1.86 vs 2.12	**0.0175	0.30 vs 0.33	**0.0001	0.18 vs 0.21	**0.0001	0.49 vs 0.57
22-3 vs HLJ	**0.0244	1.86 vs 2.01	**0.0311	0.30 vs 0.33	**0.0001	0.18 vs 0.21	**0.0039	0.49 vs 0.54

*Los resultados están presentados en base seca

** Significativamente diferente $P < 0.05$

Hinson long juvenile (HLJ), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P)

4.2.3 Microminerales

No se encontró interacción triple ni doble ($P > 0.05$) para Fe, Mn y Zn. Tampoco, un efecto de TT, excepto en Mn donde únicamente el Mn presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre variedades y entre fechas de siembra (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de varianza para microgramos de mineral entre gramos de muestra para hierro, manganeso y zinc en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico

Fuentes de variación	Fe	Mn	Zn
Fechas de siembra (FS)	0.7419	*0.0458	0.8687
Variedades (V)	0.1251	*0.0020	0.0738
Tratamiento térmico(TT)	0.8547	0.4586	0.4296
#V x Δ TT	0.8308	0.6907	0.9124
§FS x # V x Δ TT	0.0652	0.9870	0.0905

* Significativamente diferente $P < 0.05$

§FS=Fecha de siembra

V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT = Tratamiento térmico y control

Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Zinc (Zn)

Al comparar los TT (control versus los otros niveles), también se confirma que ninguno de los microminerales se vio afectado (Tabla 14). Tampoco, se encontró efecto de TT mínimo versus máximo. Hallazgos similares fueron reportados por Lokuruka (2011), el cual establece que en el procesamiento de la semilla de soya no se observan grandes pérdidas de los minerales. Debido a que la concentración de proteína incrementa el contenido de Fe, Zn, Al y Se. Esto implica que pueden estar ligados o íntimamente asociados con la fracción proteíca. Lo cual puede resultar como una capa protectora para los minerales durante el procesamiento de la semilla de soya.

Tabla 14. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para microgramos de mineral entre gramos de muestra para hierro, manganeso y zinc evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	* Fe	P valor	*Mn	P valor	*Zn
			^{ug} /g			
¹ Sinvs. ² Con	0.4982	178.55 vs 155.66	0.8598	48.18 vs 49.43	0.5916	58.51 vs 56.13
³ Min vs. ⁴ Max	0.7133	146.93 vs 160.03	0.8418	48.44 vs 49.93	0.3963	53.44 vs 57.47

*Los resultados están presentados en base seca

¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C), ⁴Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C)

Hinson long juvenile (HLJ), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Zinc (Zn)

Tabla 15. Contrastes del efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para microgramos de mineral entre gramos de muestra para hierro, manganeso y zinc evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	* Fe	P valor	*Mn	P valor	*Zn
			^{ug/g}			
HLJ vs 22-3,1-1,16-2	0.7956	154.86 vs 163.55	0.2076	42.26 vs 51.40	0.0655	50.24 vs 58.89
22-3 vs 1-1,16-2	**0.0266	106.21 vs 162.23	**0.0006	30.33 vs 51.93	0.0630	52.43 vs 60.11
22-3 vs HLJ	0.2470	106.21 vs 154.86	0.1809	30.33 vs 42.26	0.6876	52.43 vs 50.24

*Los resultados están presentados en base seca

** Significativamente diferente P < 0.05

Hinson Long Juvenile (HLJ), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Zinc (Zn)

Al comparar el HLJ versus la PR 22-3, PR 1-1 y PR 16-2 no se encontró diferencia para Fe, Mn y Zn, tampoco entre PR 22-3 versus HLJ. Sin embargo, al comparar PR 22-3 versus la PR 1-1 y PR 16-2 se presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) para Fe y Mn. Donde en ambos casos los valores fueron más bajos para la PR 22-3 siendo superada por $56.02 \mu\text{g/g}$ de Fe y $21.6 \mu\text{g/g}$ de Mn, respectivamente (Tabla 15). Datos presentados por Moseika et al. (2013) indican que las semillas de soya poseen mayor concentración de K, seguido de P, Ca y Mg. Mientras que en menor cantidad se destacan Fe, Zn y Mn, similar a lo encontrado en este estudio.

Por otro lado, investigaciones previas revelan que la composición de los macro y micro minerales de la semilla de soya cambian dependiendo de la variedad, condiciones de crecimiento, así como estado de maduración (Tunçturk et al., 2008; Chavarría, 2010; Jiao, Si, Zhang, Li, & Cai 2012; Mozeika, Bernardes & Casañas, 2013). También, investigadores como Ozcan & Juhaimi (2014) emplearon diversos métodos de tostado para la semilla de soya destacando que no hay efecto de TT para micro y macrominerales. Noemberg & Adelaide (2010) realizaron estudio con seis variedades de semilla de soya sometida a TT (hervidas y tostados) y determinaron que el TT no presenta un efecto significativo sobre el Ca, Fe y Zn al ser contrastada con semillas de soya cruda.

4.2.4 Grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales e instauración de los ácidos grasos

No se presentó una interacción triple, ni doble ($P > 0.05$) para ninguna de las variables analizadas. Por otro lado, el TT si tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) en % de grasa saturada. También, se encontró un efecto ($P < 0.05$) de variedad en grasa cruda (GC) y ácidos grasos mono-insaturados (MUFA). Por otro lado, el efecto de fechas de siembras mostró significancia en la grasa saturada, ácidos grasos mono-insaturados y poli-insaturados (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis de varianza para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturados en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Fuentes de variación	GC	Grasa saturada	AGT	MUFA	PUFA
Fechas de siembra (FS)	0.0782	**0.0001	0.6551	**0.0001	**0.0001
Variedades (V)	**0.0239	0.9997	0.1638	**0.0293	0.6071
Tratamiento térmico(TT)	0.6779	**0.0137	0.8943	0.9956	0.9970
#V x Δ TT	0.9301	1.0000	0.9998	1.0000	1.0000
§FS x # V x Δ TT	0.6025	0.0785	0.7240	0.7720	0.0981

* Significativamente diferente $P < 0.05$

§FS=Fecha de siembra

V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT = Tratamiento térmico y control

Grasa cruda (GC), Ácidos grasos totales (AGT), Ácidos grasos mono-insaturados (MUFA), Ácidos grasos poli-insaturados (PUFA)

Generalmente, los AGT están constituidos en grasas saturadas e insaturadas. La grasa insaturada se subdivide en ácidos grasos mono-insaturados y poli-insaturados (Audesirk, Audesirk, & Byers, 2003). Como se aprecia en la Tabla 17, la semilla de soya cruda presenta principalmente ácidos grasos poli-insaturados y mono-insaturados, presentándose en menores porcentajes grasa saturada (Ahmad, 2017; Chen, Erh, & Su, 2012).

La grasa saturada cuando se encuentra a temperatura ambiente es sólida, debido a que su cadena de carbono es recta y al estar alineados se adhieren uno a otros. Esta característica lo hacen más viscosos y por lo tanto son sólidos (Benito, Calvo, Gómez, & Iglesias, 2014). Pero cuando se expone a un TT cambia a un estado líquido e incrementa su volumen. Según Rueda (2016), los TT poseen una acción directa sobre las grasas, liberando la grasa contenida dentro de las células de la semilla de soya, reportando un 19.92% en soya cruda mientras que en soya tostada reporta 22.26%, respectivamente.

Tabla 17. Efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturado evaluados en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Tratamiento térmico (TT)	*GC	**Grasa saturada	*AGT	**MUFA	**PUFA
	%				
Control	21.51 a	14.03 b***	21.11 a	14.80 a	35.57 a
115°C	21.32 a	36.47 a	21.32 a	14.67 a	35.74 a
135°C	21.45 a	41.49 a	21.45 a	14.63 a	35.75 a
145°C	21.12 a	44.00 a	21.12 a	14.65 a	35.70 a
§E.E	0.33	0.99	0.36	0.52	0.66

*Los resultados están presentados en base seca

**Los resultados están en porcentajes en base a 100.

***Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

§E.E Error estándar

Grasa cruda (GC), Ácidos grasos totales (AGT), Ácidos grasos mono-insaturados (MUFA), Ácidos grasos poli-insaturados (PUFA)

De la información provista en la Tabla 18, se merece resaltar los valores correspondientes al efecto variedad, los cuales presentaron diferencia significativa ($P < 0.05$). Registrándose valores entre 21.57 y 22.36% para GC apreciándose porcentaje más alto en HLJ. Por otra parte, se encontraron porcentajes entre 13.46 a 15.92 para MUFA donde PR 22-3 y PR 1-1 presentaron los mayores porcentajes, respectivamente. Según Ahmad (2017) la GC en la semilla de soya va de un rango de 18-21%, lo cual coinciden con los valores encontrados. Mientras que Zambiasi et al.

(2007) reportó valores de 21.73% de MUFA en variedades de semilla de soya procedente de Brasil, este último no coincide con los resultados presentados en este estudio.

Tabla 18. Efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de grasa cruda, grasa saturada, ácidos grasos totales, ácidos grasos mono-saturados y ácidos grasos poli-insaturado evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Variedades	*GC	**Grasa saturada	*AGT	**MUFA	**PUFA
	%				
PR 22-3	21.92 b***	33.63 a	21.41 a	15.92 a	35.42 a
PR 1-1	22.27 b	34.03 a	21.36 a	15.08 a	35.40 a
PR 16-2	21.57 b	34.46 a	20.51 a	14.30 b	35.46 a
^Δ HLJ	22.36 a	33.87 a	21.31 a	13.46 c	36.48 a
[§] E.E	0.33	0.99	0.36	0.52	0.66

*Los resultados están presentados en base seca

**Los resultados están en porcentajes

***Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

^ΔHLJ=Hinson Long Juvenile

[§]E.E=Error estándar

Grasa cruda (GC), Ácidos grasos totales (AGT), Ácidos grasos mono-insaturados (MUFA), Ácidos grasos poli-insaturados (PUFA)

El aceite de la semilla de soya es reconocido por poseer una cantidad significativa de ácidos grasos que el organismo no posee la capacidad de sintetizarlo; ácido linolénico, ácido linoleico y ácido oleico (Jokic et al., 2013). Estos ácidos grasos son esenciales (AGE) para el buen funcionamiento del organismo debido a que mantienen las membranas de las células, producen prostaglandina, promueven la absorción de vitaminas liposolubles y ayudan al metabolismo del colesterol. El aceite de soya una fuente satisfactoria para abastecer esos requerimientos nutricionales esenciales (Mataix & Gil, 2004).

4.2.5 Ácidos grasos

No se presentó interacción triple, ni doble ($P > 0.05$), tampoco efecto de TT en las concentraciones de ácidos grasos en la semilla de soya. Sin embargo, cada uno de los ácidos grasos analizados mostró un comportamiento diferente entre las variedades empleada en este estudio. De igual forma se observaron diferencias en la fecha de siembra para el ácido mirístico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido linoleico y ácido araquidónico (Tabla 19).

Comparando los TT (con versus sin y temperaturas mínimas y máximos) no mostró un efecto sobre el porcentaje de ácidos grasos presentes en los granos de soya evaluados (Tablas 20, 21 y 22). Estos comportamientos difieren a los hallazgos encontrados por Žilić, et al. (2010) quienes afirmaron que la composición de los ácidos grasos se ve directamente afectada por los TT. Ellos observaron una drástica disminución en el ácido linolénico debido a que es el más inestable por la presencia de tres dobles enlaces (Frankel, 1998).

Tabla 19. Análisis de varianza para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido α -linolénico y ácido araquídico en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Fuentes de variación	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0
Fechas de siembra (FS)	&ND	*0.0295	0.1236	0.0002	0.0007	0.2475	0.0280	0.6224	0.0001
Variedades(V)	ND	0.0001	0.0001	0.0001	0.0042	0.0001	0.0001	0.0001	0.0147
Tratamiento térmico(TT)	ND	0.5402	0.9638	0.5854	0.2151	0.8558	0.8514	0.0610	0.9772
#V x Δ TT	ND	0.9520	0.9999	0.8895	0.2394	0.9995	0.9937	0.9918	1.0000
§FS x # V x Δ TT	ND	0.0651	0.1486	0.0631	0.7815	0.3241	0.0952	0.3540	0.8974

* Significativamente diferente $P < 0.05$

§FT=Fecha de siembra

V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT = Tratamiento térmico y control

&ND no detectado

Ácido Láurico (C12:0), Ácido mirístico (C14:0), Ácido palmítico (C16:0), Ácido palmitoleico (C16:1), Ácido esteárico (C18:0), Ácido oleico (C18:1), Ácido linoleico (C18:2), Ácido linolénico (C18:3), Ácido araquídico (C20:0)

Tabla 20. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido palmitoleico, evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*C12:0	P valor	*C14:0	P valor	*C16:0	P valor	*C16:1
				%				
Sin ¹ vs. Con ²	**ND	ND	0.3369	0.09 vs 0.09	0.7248	12.31 vs 12.35	1.0000	0.08 vs 0.08
Min ³ vs. Max ⁴	ND	ND	0.5829	0.09 vs 0.10	0.9628	12.36 vs 12.35	1.0000	0.08 vs 0.08

*Los resultados están presentados en base seca

**ND no detectado

¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C), ⁴Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C)

Ácido Láurico (C12:0), Ácido mirístico (C14:0), Ácido palmítico (C16:0), Ácido palmitoleico (C16:1)

Tabla 21. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido esteárico y ácido oleico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*C18:0	P valor	*C18:1
		%		
Sin ¹ vs. Con ²	0.1143	2.90 vs 2.80	0.4964	21.75 vs 21.50
Min ³ vs. Max ⁴	0.1581	2.73 vs 2.83	0.6579	21.61 vs 21.44

*Los resultados están presentados en base seca

¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C), ⁴Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C)
Ácido esteárico (C18:0), Ácido oleico (C18:1)

Tabla 22. Contrastes del efecto de tratamiento térmico para el porcentaje de ácido linoleico, ácido linolénico y ácido araquídico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Contrastes	P valor	*C18:2	P valor	*C18:3	P valor	*C20:0
		%				
Sin ¹ vs. Con ²	0.3926	52.81 vs 53.09	0.0670	6.96 vs 6.62	0.8011	0.22 vs 0.22
Min ³ vs. Max ⁴	0.9608	53.07 vs 53.09	0.5843	7.19 vs 7.24	0.7219	0.22 vs 0.22

*Los resultados están presentados en base seca

¹Refiere a la no aplicación de tratamiento térmico, ²Refiere a la aplicación de tratamiento térmico, ³Refiere a la temperatura mínima de tostado (115 °C), ⁴Refiere a las temperaturas máxima de tostado (135 °C y 145 °C)
Ácido linoleico (C18:2), Ácido linolénico (C18:3), Ácido araquídico (C20:0)

Los principales ácidos grasos que se destacan en la semilla de soya son de cadenas largas, los que poseen cadenas de 16 y 18 carbonos (Tabla 23). Con una mayor concentración está el ácido linoleico con un 53.02%, seguido por ácido oleico 21.56%, ácido palmítico 12.34% y el ácido linolénico 7.16%. En menores porcentajes se encuentran el ácido araquidónico 0.23%, ácido mirístico 0.09%, ácido palmitoleico 0.07% y ácido láurico que no fue detectado. Estos datos fueron contrastados con una investigación realizada por Lafont, Durango y Aramendiz (2013) en variedades genéticamente modificadas de semilla de soya, quienes reportaron valores similares. No obstante, reportan que estos ácidos grasos presentaron poca variación entre las variedades estudiadas.

Hallazgos similares también se observan en la Tabla 23, donde se muestra como varía el porcentaje de ácidos grasos según la variedad. En contraste, Sangwan, Gupta y Dhindsa (1986), realizaron estudios orientados al contenido de ácidos grasos en ocho variedades de semilla de soya. Ellos observaron mayor variabilidad en ácidos grasos por el estado de maduración de la semilla y diferentes variedades. Estableciendo que el ácido linoleico y linolénico incrementa en semillas con madurez fisiológica.

Tabla 23. Efecto de variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya para el porcentaje de ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico y ácido araquídico evaluada en dos fechas de siembra durante el 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Variedades	*C12:0	*C14:0	*C16:0	*C16:1	*C18:0	*C18:1	*C18:2	*C18:3	*C20:0
	%								
PR 22-3	[†] ND	**0.09 b	11.64 c	0.09 a	2.81 b	23.57 a	52.28 b	6.67 d	0.23 a
PR 1-1	ND	0.09 b	12.01 b	0.07 c	3.02 a	22.59 b	52.10 b	7.19 b	0.23 a
PR 16-2	ND	0.12 a	13.51 a	0.08 b	2.68 b	21.20 c	51.57 b	7.82 a	0.24 a
^Δ HLJ	ND	0.09 b	12.23 b	0.07 c	2.79 b	18.89 d	56.13 a	6.97 c	0.21 b
[§] E.E	ND	0.0001	0.10	0.001	0.05	0.30	0.27	0.07	0.006

*Los resultados están presentados en base seca

**Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes (p<0.05)

[†]ND no detectado

^ΔHLJ Hinson Long Juvenile

[§]E.E Error estándar

Ácido Láurico (C12:0), Ácido mirístico (C14:0), Ácido palmítico (C16:0), Ácido palmitoleico (C16:1), Ácido esteárico (C18:0), Ácido oleico (C18:1), Ácido linoleico (C18:2), Ácido linolénico (C18:3), Ácido araquídico (C20:0)

4.3 CONCLUSIONES

Este estudio demostró que existen diferencias en porcentaje de MS y, PB entre las variedades de soya. La PR 22-3 fue la que presentó mayor porcentaje de PB en comparación con la PR 1-1, PR16-2 y HLJ. También, se encontraron diferencias entre P, K, Ca, Mg y Mn. Los niveles de TT no afectaron la concentración de PB tampoco de los macro y microminerales. Al evaluar la concentración de grasa saturada, MUFA y ácidos grasos se encontró una diferencia entre variedades. Los TT solo tuvieron efecto en la FT y grasa saturada, pero estas no afectaron el grado de insaturación de las grasas. También, se observa una variación entre variedades en GC, MUFA y ácidos grasos (C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3 y C20:0).

5. Experimento II. Evaluar los niveles o presencia de tripsina en la semilla de soya [*Glycine max* (L.) Merr.], tostada a tres niveles de temperatura y un control

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el experimento se emplearon semillas de soya del programa de fitomejoramiento de la Estación Experimental de Isabela (EEA), Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. Las tres V se identifican como PR 1-1, PR 16-2 y PR 22-3 y el Hinson Long Juvenile (HLJ) liberada por la Universidad de Florida. La siembra fue realizada en Isabela en el mes de julio de 2016 y se cosechó en septiembre de 2016. De cada V se pesaron 10g, los cuales fueron tostados a diferentes niveles térmicos (115 °C, 135 °C y 145 °C) y un control. Finalizado los diferentes tratamientos, se procedió a la molienda empleando un molino de la marca Wiley y pasado por un tamiz de 1-mm de porosidad. Estos análisis se llevaron a cabo en el laboratorio químico de la Estación de Investigación en Agricultura Tropical del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (TARS-USDA), en Mayagüez, PR.

Una vez listas las muestras, se utilizó la metodología descrita por el kit “Tripsin Activity Assay” de la compañía Abcam®. Se pesaron 100 mg de las muestras. Una vez pesadas, fueron lavadas con una solución fría de amortiguador salino de fosfato 1% .Luego se le removió el exceso de la solución con ayuda de un gotero y se homogenizaron usando un homogenizador “dounce” colocado en un recipiente con hielo.

Después de que las muestras estuviesen bien homogenizadas, se procedió a centrifugarlas a 14,000 revoluciones por 5 minutos a 4 °C en tubos de micro-centrifuga. Finalizado el procedimiento, se recolectó el sobrenadante, el cual fue transferido a otros tubos. Se transfirió alícuotas de 25µL de cada muestra en los pocillos de la micro-placa de

ensayo, previamente rotuladas. Luego se ajustó el volumen con 50 μL de “trypsin assay buffer” para luego añadirle 1 μL de “chymotrypsin inhibitor solution” (TPCK), dejándola reposar por 10 minutos a temperatura del laboratorio (24 $^{\circ}\text{C}$).

Para el positivo, se añadió 5 μL de “positive control” y 45 μL “trypsin assay buffer”. Adicional a esto, para la preparación de la curva estándar se usó el estándar (2mM p-NA) y el “assay buffer”. Los volúmenes empleados de los mismos para la preparación de la curva estándar se describen en la Tabla 24.

Tabla 24. Preparación estándar para la curva de tripsina.

Número de estándar	Volumen del estándar (2mM p-NA) (μL)	<i>Assay Buffer</i> (μL)	Volumen final del estándar en el micro plato (μL)
1	0	150	50
2	6	144	50
3	12	138	50
4	18	132	50
5	24	126	50
6	30	120	50

Una vez listas las muestras, el positivo y los estándares fueron colocados en sus respectivos pocillos en la micro-placa de ensayo, se procedió a la dosificación de forma secuencial utilizando 50 μL de la mezcla de reacción (3,456 μL de “trypsin assay buffer” y 144 μL de “trypsin substrate”). Estos volúmenes se designaron basados en el número de muestras las cuales se multiplicaron con los volúmenes recomendados por el fabricante (Tabla 25).

Tabla 25. Medida por muestra para la preparación de mezcla de reacción.

Componentes	Mezcla de reacción (μL)
“Trypsin assay buffer”	48
“Trypsin substrate”	2

Luego de mezclar todos los ingredientes, se procedió a leer la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 405 nm a 25 °C, protegido de la luz. Las lecturas se realizaron cada 3 minutos en un lapso de 2 horas obteniendo 40 lecturas de absorbancia. Luego se realizó un promedio de las lecturas de los estándares para la realización de la curva estándar. Una vez obtenido los valores resultantes, se procedió a realizar una gráfica de puntos empleando como variable dependiente la absorbancia obtenida a 405nm y como variable independiente la concentración de p-NA (nmol). (Figura 1).

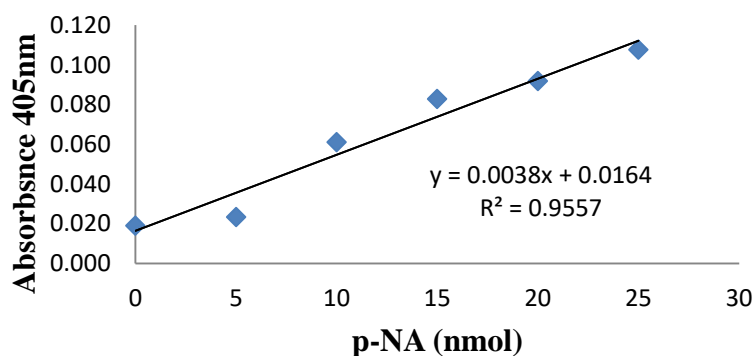


Figura 1. Curva de calibración estándar para el ensayo de actividad de tripsina.

Figura 1. Curva de calibración estándar para el ensayo de actividad de tripsina.

La actividad de tripsina fue calculada empleando la siguiente formula:

$$\Delta A_{405\text{nm}} = (A_2 - A_{2C}) - (A_1 - A_{1C})$$

Dónde:

A_1 es la absorbancia de muestra leída en el tiempo 1

A_{1C} es la absorbancia del control leída en el tiempo 1

A_2 es la absorbancia de muestra leída en el tiempo 2

A_{2C} es la absorbancia del control leída en el tiempo 2

Antes de sustituir en la fórmula se calcularon los promedios correspondientes a cada muestra. Se escogió como T1 la primera lectura de absorbancia realizada a los 3 minutos y como T2 la última lectura de absorbancia realizada a los 120 minutos. Una vez obtenido el valor de $\Delta A_{405\text{nm}}$, se procedió a calcular B nmol de p-NA generado por tripsina durante el tiempo de reacción. Este valor se obtuvo sustituyendo x por el valor $\Delta A_{405\text{nm}}$ en la ecuación lineal generada en la curva estándar $Y = 0.0038(x) + 0.0164$.

Una vez obtenido B, se procedió a calcular la actividad de tripsina en cada una de las muestras empleando la siguiente formula:

Actividad de tripsina

$$\text{Actividad de tripsina} = \left(\frac{B}{\Delta T \times V} \right) * D$$

Dónde:

B cantidad de p-NA de la curva estándar

ΔT tiempo de reacción (T2-T1) (min)

V volumen de muestra pre-tratada añadido en el pocillo de la micro-placa

D factor de dilución de la muestra

5.1.1 Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento fue establecido utilizando un diseño en bloques completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones y un arreglo factorial V x TT (4x4). El análisis de varianza se realizó con la ayuda del paquete estadístico Infostat (2014). Para la comparación de las medias de los tratamientos, se empleó la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher LSD, con un nivel de significancia de $P < 0.05$.

5.2 RESULTADO Y DISCUSIÓN

La figura 1, muestra la curva de calibración estándar para el ensayo de actividad de tripsina. La ecuación lineal de la misma fue $Y = 0.0038(x) + 0.0164$ con un R^2 de 0.9557, lo cual nos indica un buen ajuste de los datos a la recta.

5.2.1 Actividad de tripsina

La interacción de V x TT no fue significativa ($P > 0.05$). Por otro lado, el TT si tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) para la actividad de tripsina. Sin embargo, el efecto de variedad no fue significativo.

Tabla 26. Análisis de varianza para actividad de tripsina en variedades (PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile) de semillas de soya evaluada en siembra de julio 2016, en la Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Fuentes de variación	Actividad de Tripsina
Variedades (V)	0.4363
Tratamiento térmico(TT)	*0.0005
#V x Δ TT	0.9432

*Significativamente diferentes ($p < 0.05$)

V= PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile

Δ TT = Tratamiento térmico y control

En la Tabla 26, se observan valores promedio de $4.0^{\text{U}}/\text{ml}$ en la temperatura control, mientras que en temperatura de 115, 135 y 145°C un promedio de $0.0^{\text{U}}/\text{ml}$. Estos resultados revelan que la enzima tripsina fue inactivada a causa de los TT. Los factores anti-nutricionales pueden ser termo-estables (estable a altas temperaturas) y termo-lábiles (presentan cambios en respuesta a altas temperaturas), siendo la actividad de tripsina un factor termo-lábil (Elizalde, Porrilla, & Chaparro, 2009). Herkelman, Cromwell y Stahly (1991) afirma que al procesar semillas de soya a 121°C se observa disminuciones progresivas de actividad de tripsina a medida que incrementa el tiempo de exposición.

La inhibición de la actividad de tripsina puede variar dependiendo del TT aplicado. Investigaciones realizadas por Mateos, Latorre y Lázaro (2015) y Rueda (2016) indican que las condiciones del tiempo, temperatura, presión, humedad y superficie del grano expuestas pueden influir. También otros autores, indican que con TT mínimo (80°C) reduce o destruye la actividad de tripsina (Faldet, Satter, & Broderick, 1992; Moretto, 2015; Quicazan & Caicedo, 2012).

Tabla 27. Efecto de tratamiento térmico para actividad de tripsina evaluado en semillas de soya en siembra de julio 2016, Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Tratamiento térmico (TT)	Actividad de Tripsina
	^u U/ml
Control	4.00 a*
115 °C	0.00 b
135 °C	0.00 b
145 °C	0.00 b
§E.E	0.49

*Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes (P<0.05)

§E.E=Error estándar

La Tabla 28, muestra que las V de semilla de soya no tienen diferencias significativas en la actividad de tripsina. Esta observación difiere con los hallazgos encontrados por Gu et al. (2010) y Guillamón, Pedrosa, Burbano, y Cuadrado (2008), quienes reportan diferencias significativas en la actividad de tripsina en diversas variedades de semilla de soya. Esta variabilidad en la actividad de tripsina se debe a diferencias genéticas en las variedades de soya, clima, ambiente o factores geográficos (Gu et al. 2010).

Tabla 28. Efecto de variedades PR 22-3, PR 1-1, PR 16-2 y Hinson Long Juvenile de semillas de soya para actividad de tripsina evaluado en semillas de soya en siembra de julio 2016, Estación Experimental de Isabela, Puerto Rico.

Variedades	Actividad de Tripsina
	^u U/ml
PR 22-3	1.02 a*
PR 1-1	0.78 a
PR 16-2	0.52 a
△HLJ	1.67 a
§E.E	0.49

*Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes (P<0.05)

△HLJ=Hinson Long Juvenile

§E.E= Error estándar

5.3 CONCLUSIONES

Este estudio demostró que la semilla de soya sin tostar tiene actividad de tripsina, siendo el efecto de variedad no significativo en las variedades de semilla de soya empleadas. Al tratarse a una temperatura entre 115-145 °C por 30 minutos, se observó una inactivación de la tripsina. Por lo tanto, se puede emplear un TT mínimo de 115 °C para su inactivación.

6 RECOMENDACIONES

Debido a que ningún nivel de TT afecto la composición nutricional y perfil de ácidos grasos, se recomienda un TT entre 115-145 °C por 30 minutos para estas variedades de soya. El TT es necesario para inactivar enzima (ej., Tripsina). Estudios futuros deben evaluar el uso de soya tostada y no-tostada a diferentes tasas para medir su efecto en producción de leche y calidad de carne. Debido a que la PR 23-2 mostró mayor concentración de PB, esta se recomienda en la alimentación animal. Finalmente, de acuerdo al buen perfil de ácidos grasos encontrados en las variedades de soya, estas exhiben un potencial para la producción de biodiesel.

7 LITERATURA CITADA

- Ahmad, P. (2017). *Oilseed crops: Yield and adaptations under environmental stress*. India: Wiley Blackwell. Recuperado de <https://books.google.com.pr/books>
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis association of official analytical chemist*. Washington, DC: AOAC.
- Aponte, A., Valencia, E., & Beaver, J. (2015.) Producción de biomasa y valor nutritivo de líneas de soya forrajera [*Glycine max* L (Merr.)] en el noroeste de Puerto Rico. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 99(1), 10-36. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11721/1002>
- Audesirk, T., Audesirk, G., & Byers, B. (2003). *Biología: La vida en la tierra*. (9 ed., pp. 43-45). México: Pearson Educación.
- Bailoni, L., Bortolozzo, A., Mantovani, R., Simonetto, A., Schiavon, S., & Bittaante, G. (2004). Feeding dairy cows with full fat extruded or toasted soybean seeds as replacement of soybean meal and effects on milk yield, fatty acid profile and CLA content. *Italian Journal of Animal Science*. 3, 243-258. Recuperado de <http://www.tandfonline.com/loi/tjas20>
- Beaver, J., González, A., & Valencia, E. (2016). Release of PR0968-1-1 and PR0968-16-2 Forage soybean germplasm lines. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 100(2), 263-266. Recuperado de <http://revistas.upr.edu/index.php/jaupr/article/viewFile/12737/10480>
- Becker-Ritt, A., Mulinari, F., Vasconcelos, I., & Carlini, C. (2004). Antinutritional and/or toxic factors in soybean (*Glycine max* (L) Merrill) seeds: comparison of different

- cultivars adapted to the southern region of Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(1), 5-18. DOI: 10.1002/jsfa.1628.
- Benavidez, R., González, E., Fresoli, D., Santos, D., & Soro, M. (2007). Evolución del contenido de proteína y aceite en grano de soja en Argentina entre las campañas 1999- 2000 y 2005-2006. *Revista Agromensajes de la Fac. de Agronomía de la UNR*.
- Benito, P., Calvo, S., Gómez, C., & Iglesias, C. (2014). *Alimentación y Nutrición en la Vida Activa: Ejercicio Físico y Deporte*. Madrid: Editorial UNED.
- Benkenstein, L. (2009). *Evaluación de tratamiento anticipado con semillas, insecticidas y efecto en la calidad fisiológica de semilla de soja (Glycine max)* (Tesis de maestría, Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Asunción, Paraguay).
Recuperado de <https://books.google.com.pr>
- Castro, H. (2005). *Cascarilla de soja*. Rafaela: INTA EEA. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion/37-cascarilla_de_soja.pdf
- CEPAL, IICA, FAO. (2015). *Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas*: Recuperado de <http://www.iica.int/sites/default/files/publications/files/2015/b3695e.pdf>
- Chavarría, L. (2010). *Determinación del tiempo de vida útil de la leche de soja mediante un estudio de tiempo real*, (Tesis de maestría, Escuela Superior Politécnico del Litoral, Guayaquil, Ecuador). Recuperado de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/9057>

- Chen K. I., Erh, M. H., & Su, N. W. (2012). Soy foods and soybean products: from traditional use to modern applications. *Applied Microbiology Biotechnology*, 96(1), 9-22. DOI: 10.1007/s00253-012-4330-7.
- Chiariotti, J., Rinaldi, S., & Villaluce, B. (2011). *Elaboración de biodiesel a partir de aceite crudo de soya* (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina). Recuperado de <http://www.fca.proed.unc.edu.ar>
- Cuniberti, M. & Herrero, R. (2006). Factores que influyen en el contenido de proteína y aceite en la soja argentina. *Inf. de Actualización Técnica* 7, 67-70.
- Du, C., Tan, C., Mintz, S., & Wilfred, S. (2008). *The world of soy*. Estados Unidos: NUS press. Recuperado de <https://books.google.com.pr/books>
- Elizalde, A., Porrilla, Y., & Chaparro, D. (2009). Factores anti-nutricionales en semillas. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1),46-54. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a07.pdf>
- Faldet, M. A., Satter, L. D., & Broderick, G. A. (1992). Determining optimal heat treatment of soybeans by measuring available lysine chemically and biologically with rats to maximize protein utilization by ruminants. *The Journal of Nutrition*, 122(1),151-160. DOI: 10.1093/jn/122.1.151
- Frankel, E.N. (1998). *Lipid oxidation: The oily press ltd*. United Kingdom: Glasgow.
- Gallardo, M., & Gaggiotti, M. (Agosto, 2003). *Cómo utilizar la soya y sus subproductos en la alimentación del ganado*. Rafaela: INTA EEA. Recuperado de http://rafaela.inta.gov.ar/info/documentos/art_divulgacion/soja_subproductos.htm
- Ganesh, D., & Grieve, D. G. (1990). Effect of roasting raw soybeans at three temperatures on *in situ* dry matter and nitrogen disappearance in dairy cows. *Journal of Dairy*

Science, 73(11), 3222-3230. Recuperado de [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)79014-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)79014-5).

González Garrido, A. (2014). *Los carbohidratos en la alimentación de la vaca de leche*.

Recuperado de <http://www.iberliquidos.es/assets/los-carbohidratos-en-la-alimentacion-de-la-vaca-de-leche.pdf>

González, A., Marichal, M., Bauza, R., Bentancur, O., Bratschi, R., Pacheco, L., &

Vignolo, M. (2014). Evaluación de alternativas de procesamiento del grano de soja para mejorar su aprovechamiento para la alimentación animal. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 26(20), 1-8. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/111-soja.pdf

http://www.produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/111-soja.pdf

Graef, G., LaVallee, B., Tenopir, P., Tat, M., Schweiger, B., Kinney, A., Van Gerpen, J., &

Clemente, T. E. (2009). A high-oleic-acid and low-palmitic-acid soybean: agronomic performance and evaluation as a feedstock for biodiesel. *Plant Biotechnology Journal*, 7(5), 411–21. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00408.x.

DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00408.x.

Grasso, F. (2013). *Diseño del proceso: Pre-tratamiento enzimático para extracción de*

aceites vegetales en un extractor de columna (Tesis Doctoral, Universidad Nacional

de la Plata, Buenos Aires, Argentina). Recuperado de [http://sedici.unlp.edu.ar/](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26889/Documento_completo_.pdf?sequence=1)

[bitstream/handle/10915/26889/Documento_completo_.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26889/Documento_completo_.pdf?sequence=1)

Gu, C., Pan, H., Sun, Z., & Qin, G. (2010). Effect of soybean variety on anti-nutritional

Factors Content, and Growth Performance and Nutrients Metabolism in Rat

International Journal of Molecular Sciences, 11(3), 1048-1056. DOI:

10.3390/ijms11031048.

Guillamón, E., Pedrosa, M., Burbano, C., & Cuadrado, C. (2008). The trypsin inhibitors

present in seed of different grain legume species and cultivar. *Journal Food*

- Chemistry*, 107 (2008), 68–74. Recuperado de <https://www.journals.elsevier.com/food-chemistry>
- Herkelman, K. L., Cromwell, G. L., & Stahly, T. S. (1991). Effects of heating time and sodium metabisulfite on the nutritional value of full-fat soybeans for chicks. *Journal of Animal. Science*, 69(11), 4477-4486. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1752823>
- Hernández, S. (2010). *Importancia de la fibra en la alimentación de los bovinos* (Tesis de maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacana, México). Recuperado de <http://mateandoconlaciencia.zonalibre.org/IMPORTANCIADELAFIBRAENLAALIMENTACIONDELOSBOVINOS.pdf>
- Infostat. (2014). “Software” Disponible en *Agricultural College of the National University of Córdoba*, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar/>
- INTA. (2012). *XXII Curso internacional de lechería para profesionales de América Latina*. Recuperado de: <https://inta.gob.ar/eventos/xxii-curso-internacional-de-lecheria-para-profesionales-de-america-latina.pdf>
- International Organization for Standardization (1978). *Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids*: International Organization for Standardization –ISO (ISO 5509).
- Jiao, Z., Si, X., Zhang, Z., Li, G., & Cai, Z. (2012). Compositional study of different soybean (*Glycine max* L) varieties by spectroscopy, chromatographic and spectrometric techniques. *Journal Food Chemistry*, 135(1), 285-291. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.091>

- Johnson, L., & Myers, D. (1995). Industrial uses for soybeans. En David R. Erickson (Ed.), *Practical handbook of soybean processing and utilization* (pp. 380-427).
Recuperado de <http://doi.org/10.1016/B978-0-935315-63-9.50025-5>
- Johnson, L. A. (1985). Soy Protein Chemistry. *Processing and Food Applications, 70th Annual Meeting of the Am. Assoc. of Cereal Chemists*, Orlando.
- Jokić, S., Sudar, R., Svilović, S., Vidović, S., Bilić, M., Velić, D., & Jurković, V. (2013). Fatty acid composition of oil obtained from soybeans by extraction with supercritical carbon dioxide. *Czech Journal of Food Science*. 31(2), 116-125.
Recuperado de <https://scholar.google.com.pr>
- Kronfeld, D. S. (1976). The potencial importance of the proportions of glucogenic, lipogenic and aminogenic nutrients in regard to the health and productivity of dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.7:5.
- Lafont, J., Durango, L., & Aramendiz, H. (2013). Estudio químico del aceite obtenido a partir de siete variedades de soja (*Glycine max* L.). *Información Tecnológica*, 25(2), 79-86. DOI: 10.4067/S0718-07642014000200009.
- Latimori, N., Kloster, A., & Garis, M. (2006). *Uso de "expeller" de soja como sustituto de la harina de soja en dietas de engorde de bovinos a corral*. Marcos Juárez: INTA EEA. Recuperado de <https://inta.gob.ar/documentos/uso-de-expeller-de-soja-como-sustituto-de-la-harina-de-soja-en-dietas-de-engorde-de-bovinos-a-corral>
- Lokuruka, M. (2011). Effect of processing on soybean nutrients and potential impact on consumer health: an overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 11(4), 5000-5017. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.4314/ajfand.v11i4.69170>

- López, A., Grases, F., Costa, A., Monroy, N., Vicente T., & Jaume, M. (2009). Fitato y su utilidad en la práctica clínica. *Medicina Balear*, 24(2): 39-46. Recuperado de <http://ibdigital.uib.es/>
- Luna, A. (2007). Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia*, 15(27), 35-44. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67403706>
- Martínez, F. (2001). *Incremento de la Biodisponibilidad Intestinal de Proteína y Almidón mediante la Manipulación de su degradabilidad en el Rumen*, (Tesis doctoral, Universidad Almería, Almería, España). Recuperado de <https://books.google.com.pr>
- Mataix, J., & Gil, A. (2004). Lípidos alimentarios. En *Libro blanco de los Omega-3: Los ácidos grasos poli-insaturados Omega 3 y mono-insaturados tipo oleico y su papel en la salud*. España: Editorial Médica Panamericana.
- Mateos, G.G., Latorre, M. A., & Lázaro, R. (2015). *Procesamiento de haba de soya*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/265225372_Procesamiento_del_haba_de_soja
- Meléndez, P. (17 de julio de 2015). Suplementación de grasas en la alimentación de vacas lecheras. *El Mercurio*. Recuperado de <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Redes/Detallenoticia.aspx?id=903422>
- Moretto, F. (2015). *Efecto de la temperatura de extrusión del grano de soya sobre la degradación ruminal de la proteína del “expeller”* (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Córdoba). Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/tesis_unvm_moretto_franco_efecto_de_la_temperatura_de_extrusion.pdf

- Mozeika, M., Bernardes, G., & Casañas, A. L. (2013). *Soybean and Isoflavones: From farm to fork*. INTECH Open Access Publisher. Recuperado de <https://books.google.com.pr>
- Ozcan, M., & Juhaimi, F. (2014). Effect of sprouting and roasting processes on some physico-chemical properties and mineral contents of soybean seed and oils. *Journal Food Chemistry*, 154: 337–342. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.12.077
- Nasiff, A., & Meriño, E. (junio, 2003). Ácidos grasos omega-3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. *Revista Cubana de Medicina*. 42(2), 49-55. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v42n2/med08203.pdf>
- Noemberg, E., & Adelaide, B. (2010). Effect of soaking and cooking on phytate concentration, minerals, and texture of food-type soybeans. *Artículo Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 30(4), 1056-1060. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/cta/v30n4/v30n4a34.pdf>
- Pastoriza, S. (2013). *Efecto de la ingesta de compuestos avanzados de la reacción de Maillard sobre el metabolismo gastrointestinal*. (Tesis doctoral, Universidad de Granada, Granada, España). Recuperado de <https://hera.ugr.es/tesisugr/21915076.pdf>
- Piper, E., & Boote, K. (1999). Temperature and cultivar effects on soybean seed oil and protein concentration. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(10), 1233-1241. DOI: 10.1007/s11746-999-0099-y.
- Poulson, B., & Wilkins, J. (08-04-2018). *Potassium*. *Health encyclopedia of University of Rochester, Medical Center*, New York. Recuperado de

<https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?contenttypeid=19&contentid=potassium>

- Quicazán, M., & Caicedo, L. (2012). Inactivación del inhibidor de tripsina durante el tratamiento térmico de bebidas de soya. *Vitae*, 19 (1), S337-S339. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914105.pdf>
- Rafiee-Yarandi, H., Ghorbani, G., Alikhani, M., Sadeghi-Sefidmazgi, A., & Drackley, J. (2016). A comparison of the effect of soybeans roasted at different temperatures versus calcium salts of fatty acids on performance and milk fatty acid composition of mid lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5422-5435. DOI: 10.3168/jds.2015-10546.
- Ridner, E.(2006). *Soja: propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. Buenos Aires: Grupo Q S.A.:Sociedad Argentina de Nutrición. Recuperado de: <http://www.sanutricion.org.ar/files/upload/files/soja.pdf>
- Rueda, S. (2016). *Energía metabolizable del grano de soya integral determinada en pollo de engorde*. (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/54244/1/43617800.2016.pdf>
- Ruiz, M. (2015). *Efecto de dos procesos térmicos sobre la calidad biológica de la proteína de granos de Guandul (Cajanus sp) y Vitabosa (Mucuna sp) utilizando como modelo animal pollos de engorde*. (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia). Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/52826/1/43071046.2016.pdf>
- Salmerón Erdosay, J., Cervantes Santana, T., Mastache Lagunas, A. A., De la Cruz Torres, E., García Andrade J. M., Falcón Bárcenas, T., ... Gatica Téllez, M. A. (2010).

- Rendimiento de grano de 34 líneas mutantes de soya*. Recuperado de www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/41/118/41118560.pdf
- Sangwan, N., Gupta, K., & Dhindsa K. (1986). Fatty acid composition of developing soybeans. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 34(3), 415–417. DOI: 10.1021/jf00069a008.
- Solano, G., Fonseca, R., & Santiesteban, R. (2012). Composición de variedades de granos de soya. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 19(4), 241-245. Recuperado de http://www.iip.co.cu/RCPP/194/194_06artGSolano.pdf
- Statistical Analysis System Institute. (2009). *SAS User's guide*: Cary NC. S.A.S. Institute Inc.
- Tobía, C., & Villalobos, E. (2004). Producción y valor nutricional del forraje de soya en condiciones tropicales adversas. *Agronomía Costarricense*, 28(1),17-25.Recuperado de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v28n01_017.pdf
- Tobía, C., Villalobos, E., & Rico, E. (2006). Uso del forraje de soya (*Glycine max* [L.] Merrill) variedad cifras 06 en la nutrición de los rumiantes. En *X seminario de pastos y forrajes*. Seminario llevado a cabo por AVPA, Venezuela.
- Valencia, R., & Garzón, V. (2004). *Potencialidades de la soya y usos en la alimentación humana y animal*. Colombia: Corpoica. Recuperado de <https://books.google.com.pr>
- Valencia, R., & Ligarreto, G. (2010). Mejoramiento genético de la soya (*Glycine max* [L.] Merrill) para su cultivo en la altillanura colombiana: una visión conceptual prospectiva. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 155-163.Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v28n2/v28n2a04.pdf>
- World Wildlife Fund. (2014). *El Crecimiento de la soya: Impactos y soluciones*. WWF International, Gland, Suiza.Recuperado de . <http://wwf.panda.org>

- Zambiasi, R., Przybylski, R., Weber, M., & Barbosa, C. (2007). Fatty Acid Composition of Vegetable Oils and Fats. *B.CEPPA*, 25(1), 111-120. Recuperado de <http://www.nononsensecosmethic.org/wp-content/uploads/2015/01/fatty-acid-oil-composition.pdf>.
- Žilić, S., Šobajić, S., Mladenović S., Kresović B., & Vasić M. (2010). Effects of heat processing on soya bean fatty acids content and the lipoxygenase activity. *Journal of Agricultural Sciences*, 55(1), 55-64. DOI: 10.2298/JAS1001055Z.