

Desarrollo de emulsiones aceite en agua con elevado contenido lipídico para dietas cetogénicas

Benitez L.O. ⁽¹⁾, Salgado P.R. ⁽²⁾, Añón M.C. ⁽²⁾

(1) Facultad de Ciencias de la Alimentación – UNER, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, CONICET – UNLP), Buenos Aires, Argentina.

lucasobenitez@hotmail.com

RESUMEN

La dieta cetogénica se ha indicado efectiva en el tratamiento de la epilepsia refractaria. Este régimen alimentario promueve la ingesta de elevadas fracciones lipídicas, y bajas en carbohidratos y proteínas. El objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar emulsiones de aceite en agua (O/W) para ser utilizadas en el desarrollo de alimentos con elevado contenido lipídico, capaces de ser incluidos en la dieta cetogénica. Se formularon emulsiones con distintas relaciones de aceite:carbohidratos+proteínas y distintas relaciones de fases. Se preparó una dispersión acuosa de harina de soja y se pre-emulsificó con aceite de arroz utilizando un homogeneizador Ultraturrax. La pre-emulsión se sometió a 150 bar en un homogeneizador de válvula durante 1 o 5 etapas de homogeneización. Las emulsiones resultantes fueron almacenadas en refrigeración y en reposo. Todas las emulsiones obtenidas presentaron distribuciones bimodales de tamaño de gotas y elevados valores de luz dispersada. El aumento en el número de etapas de homogeneización permitió obtener emulsiones con distribuciones de tamaño de partículas más homogéneas. La mayoría de las emulsiones estudiadas resultaron estables durante siete días de almacenamiento. Las emulsiones formuladas resultan promisorias para desarrollar alimentos con elevado contenido lipídico.

Palabras clave: Estabilidad de emulsiones O/W, Aceite de arroz, Harina de soja, alimentos con alto contenido lipídico.

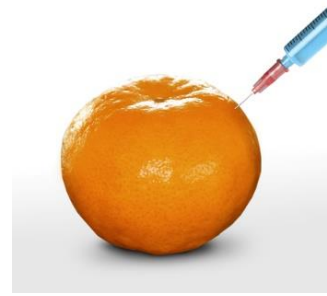
103

ABSTRACT

The ketogenic diet has been shown to be effective in the treatment of refractory epilepsy. This diet promotes the ingestion of high lipid fractions, low in carbohydrates and proteins. The objective of this work was to obtain and characterize oil-in-water emulsions (O/W) to be used in the development of foods with high lipid content, capable of being included in the ketogenic diet. Emulsions with different ratios of oil: carbohydrates + proteins and different phase ratios were formulated. An aqueous dispersion of soybean meal was prepared and pre-emulsified with rice oil using an Ultraturrax homogenizer. The pre-emulsion was then subjected to 150 bar in a valve homogenizer during 1 or 5 homogenization steps. The resulting emulsions were stored under refrigeration and at rest. All emulsions obtained showed bimodal droplet size distributions and high values of light scattered. The increase in the number of homogenization steps allowed obtaining emulsions with more homogeneous particle size distributions. Most of the studied emulsions were stable for seven days of refrigerated storage. The formulated emulsions are promising for the development of foods with high lipid content.

Keywords: O/W emulsion stability, rice oil, soybean flour, high lipid content food.

INTRODUCCIÓN



La dieta cetogénica (DC) es un régimen alimentario donde el mayor aporte calórico proviene de los lípidos, limitándose la ingesta de carbohidratos y proteínas. Los alimentos básicos incluidos en la dieta cetogénica son crema de leche, manteca, mayonesa, aceite, queso, tocino y huevos, y se complementan con carne, pescado, nueces, frutas y verduras. Sin embargo, para lograr la proporción adecuada de macrocomponentes, se deben conocer las cantidades y la composición nutricional de cada uno de los alimentos ingeridos (Armeno et al., 2014). La DC es una alternativa terapéutica actualmente aceptada para tratar pacientes epilépticos refractarios a fármacos antiepilépticos ya sean niños o adultos (Freeman et al., 1998, Kossoff et al., 2009, Stafstrom y Rho 2012). Pero, al mismo tiempo, es un régimen alimentario restrictivo y estricto, de difícil aceptación y continuidad para el paciente (Armeno et al., 2014). El desarrollo de productos alimenticios que respeten dichas proporciones, en particular la formulación de emulsiones O/W, se presenta como un desafío interesante para la industria alimentaria. Las emulsiones O/W son sistemas termodinámicamente inestables cuyas características y propiedades dependen de la composición de las fases acuosa y oleosa, de los compuestos tensioactivos, de la técnica de emulsificación y de las condiciones de almacenamiento, entre otros factores (McClements 1999). El aceite de arroz es rico en ácidos oleico, linoleico y palmítico, y también posee antioxidantes como tocoferoles, γ -oryzanol y tocotrienoles que han resultado ser beneficiosos para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Kris-Etherton, 2002), por lo que resulta atractivo para utilizarse como fase oleosa en la formulación de emulsiones O/W. Si bien este aceite es ampliamente utilizado en países asiáticos y en Estados Unidos como aditivos en alimentos, productos farmacéuticos y en la producción de piensos para animales (Orthofer, 2005). Por otra parte, estudios muestran que las proteínas de soja son capaces de formar y estabilizar emulsiones (Kinsella 1979, Aoki et al., 1981). El empleo de harinas de soja con elevado contenido proteico, que además contienen carbohidratos y lípidos, resulta promisorio para la formulación de emulsiones O/W que respeten las proporciones de nutrientes definidas por la dieta cetogénica. En este contexto, el obtener emulsiones de aceite en agua (O/W) para ser utilizadas en el desarrollo de alimentos con elevado contenido lipídico, capaces de ser incluidos en la dieta cetogénica; evaluando el efecto de la formulación y del procesamiento sobre la formación y estabilidad de las emulsiones resultantes fueron realizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El aceite de arroz de la firma Saman S.A. fue adquirido en la ciudad de Salto, República Oriental del Uruguay. La harina de soja con alto porcentaje en proteínas fue suministrado por la firma América Pampa S.A. de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico.

Caracterización del aceite de arroz

Se determinó la composición de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (GC) de acuerdo al método estandarizado IUPAC 2.302.

Caracterización de la harina de soja

Se determinó el contenido de agua mediante un determinador electrónico a 105°C, el contenido proteico por método Kjeldahl ($N \times 6,25$), lípidos por el método de Soxhlet empleando *n*-hexano como solvente, cenizas por método gravimétrico, carbohidratos por el método de diferencias y fibras por el método de filtro cerámico (AOAC, 2005).

Preparación de las emulsiones aceite en agua (O/W)

Se formularon emulsiones O/W empleando aceite de arroz como fase oleosa y una dispersión acuosa de harina de soja como fase acuosa. Se obtuvieron emulsiones con diferentes relaciones cetogénica contenido lipídico: contenido de carbohidratos+proteínas (5:1, 4:1 y 3:1 p/p) y diferentes relaciones de fases (ϕ) (0,2, 0,25 y 0,3). La **Tabla 1** muestra la cantidad de aceite de arroz, harina de soja y agua para cada una de las emulsiones estudiadas.



Tabla 1. Formulaciones de las emulsiones O/W.

	Relación cetogénica (*)					
	5:1			4:1		3:1
	phi = 0,30	phi = 0,25	phi = 0,20	phi = 0,25	phi = 0,20	phi = 0,20
Aceite de arroz (g)	88,51	73,75	59,00	73,44	58,75	58,34
Harina de soja (g)	23,35	19,46	15,56	24,32	19,46	25,94
Agua (g)	209,25	224,38	239,50	224,22	239,38	239,17

(*) Relación cetogénica: contenido de lípidos: contenido de carbohidratos+proteínas.

Se pesó en un vaso de precipitado la harina de soja, se le incorporó $\frac{3}{4}$ del agua destilada total de la formulación de la emulsión, la dispersión resultante se mantuvo en agitación a 1180 rpm durante 1 hora con el objetivo de hidratar los compuestos que conforman la harina. En otro vaso de precipitado se pesó la cantidad de aceite necesaria para cada una de las formulaciones. Transcurrido el tiempo de hidratación de la harina, se trasvasó el contenido de la dispersión al vaso que contenía el aceite. Con el $\frac{1}{4}$ agua destilada restante se lavó el vaso que contenía la dispersión y se lo trasvasó al vaso que contenía el aceite.

Se realizó la pre-emulsificación utilizando un equipo UltraTurrax T18 con rotor S18N-19G operado a 18,000 rpm por 90 s. La cantidad de emulsión ensayada para cada una de las formulaciones fue de 300 mL.

Las pre-emulsiones fueron homogenizadas a 150 bar usando un homogenizador de válvulas de altas presiones hidroestáticas (Panda 2000, GEA), realizando 1 y 5 recirculaciones.

Las emulsiones obtenidas se sometieron a almacenamiento estanco en temperatura de refrigeración (4°C) y al resguardo de la luz.

Caracterización de las emulsiones

Distribución de diámetro de partícula y parámetros D(4,3) y D(3,2)

La distribución de diámetros de partícula y los parámetros de diámetro medio De Broucker D (4,3) y Sauter D (3,2) de las partículas de las emulsiones fueron determinados utilizando un equipo de difracción laser (Malvern, Mastersizer 2000) a los días 0 y 7.

Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de las emulsiones se determinó cuantificando la dispersión de la luz que produce la muestra, utilizando el equipo Turbiscan Formulation. Se realizaron determinaciones a las 0 y 7 días El equipo cuantifica el porcentaje de backscattering (%BS) en función del largo del tubo (50-60 mm). A cada tiempo, se obtuvieron los valores promedios de %BS en las zonas inferior (zona 1) y superior (zona 2) del tubo de cada una de las emulsiones ensayadas, con el fin de determinar la estabilidad de las mismas.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado mediante un ANOVA con un nivel de significancia del 5%. Se llevaron a cabo comparaciones de medias de acuerdo al test de comparaciones múltiples de Tukey con un valor de significancia de 0,05. Se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los valores experimentales de acuerdo a los Tests de Kolmogorov-Smirnov y de Levenne respectivamente, ambos con un nivel de significancia del 5%. Todos los ensayos en este trabajo se realizan por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del perfil de ácidos grasos del aceite de arroz

En la **Tabla 2** se muestra la composición de ácidos grasos del aceite de arroz utilizado en este trabajo. Aproximadamente el 75% de los ácidos grasos de este aceite son insaturados, siendo los ácidos oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) los mayoritarios. De los ácidos grasos saturados, el palmítico (C16:0) es el más abundante.



Debido a su riqueza en ácidos grasos insaturados, el aceite de arroz resulta susceptible de sufrir fenómenos de auto-oxidación y enranciamiento. A su vez, el perfil lipídico de este aceite provee a las dietas un mejor aporte nutricional, sobre todo en la dieta cetogénica para pacientes epilépticos refractarios, donde es restringida la ingesta de alimentos.



Tabla 2. Perfil lipídico del aceite de arroz.

Ácido graso	Nombre	Porcentaje (%)
C18:1 N-9 CIS	ácido Oleico (w-9)	40,18 ± 2,05
C18:2 N-6 CIS	ácido Linoleico (w-6)	31,51 ± 1,63
C16:0	ácido Palmítico	16,7 ± 1,11
C18:0	ácido Esteárico	1,91 ± 0,36
C18:3 N-3	ácido Alfa Linolénico (w-3)	1,11 ± 0,05
C18:3 N-6	ácido Gama Linolénico (w-6)	0,71 ± 0,13
C20:1	ácido Pualinico o Gondoico	0,53 ± 0,03
C24:0	ácido Lignocérico	0,46 ± 0,18
C20:3 N-6	ácido Eicosatrienoico	0,3 ± 0,14
C14:0	ácido Mirístico	0,22 ± 0,02
C16:1	ácido Palmitoleico	0,18 ± 0,05
C20:0	ácido Araquídico	0,13 ± 0,01
C17:0	ácido Margárico	0,04 ± 0,01

Caracterización de la harina de soja

En la **Tabla 3** se presenta la composición química porcentual de la harina de soja empleada en este estudio. Cabe destacar que esta harina posee un elevado contenido proteico ($\approx 50\%$) y que además posee cantidades apreciables de carbohidratos ($\approx 27\%$) y lípidos ($\approx 6\%$). Esta información se tuvo en cuenta para formular cada una de las emulsiones O/W con diferentes relaciones cetogénicas y relaciones de fases (ϕ) (**Tabla 1**).

107

Tabla 3. Composición química porcentual de la harina de soja con elevado contenido proteico.

Componente	Porcentaje (%)
Proteínas	49,81 ± 0,44
Carbohidratos	27,22 ± 0,05
Lípidos	6,45 ± 0,01
Fibras	7,24 ± 0,65
Cenizas	6,06 ± 0,17
Humedad	3,22 ± 0,27



Caracterización de las emulsiones

Distribución de diámetro de partícula y diámetros promedio

Distribución de diámetros de partícula

En la **Figura 1** se muestran las distribuciones de diámetros de partículas de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Todas las emulsiones presentaron inicialmente distribuciones bimodales de gotas, apreciándose un pico de mayor proporción alrededor de $1\ \mu\text{m}$ y un pico menor alrededor de los $30\ \mu\text{m}$ (**Figuras 1.A** y **1.B**). Las distribuciones iniciales correspondientes a las emulsiones obtenidas empleando sólo una etapa de homogeneización (**1.A**) presentaron un hombro en la zona con valores menores de diámetro de partícula que disminuye su apreciación cuando se procesan con cinco etapas de homogeneización (**1.B**). Asimismo, el pico de mayor tamaño ($\approx 30\ \mu\text{m}$) disminuye su proporción cuando se obtienen las emulsiones con cinco etapas de homogeneización. Estos resultados indican que se obtienen partículas con diámetros más homogéneos al aumentar el número de ciclos de homogeneización. Por otra parte, no se observaron cambios apreciables en las distribuciones de diámetros de partículas de las emulsiones almacenadas en refrigeración durante siete días (**Figuras 1.C** y **1.D**).



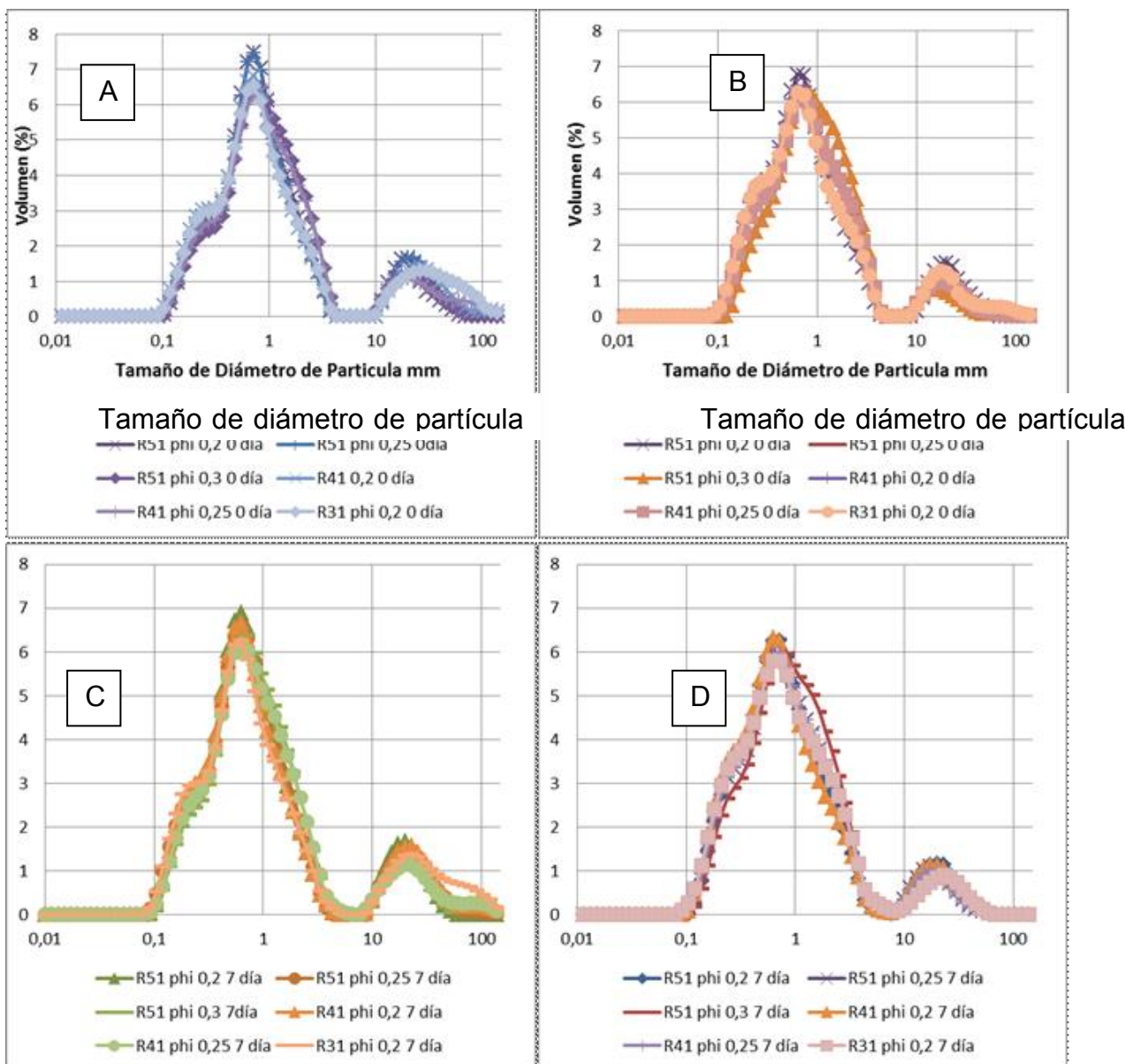


Figura 1. Distribución de diámetros de partículas de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases ($\phi=0,20, 0,25$ y $0,30$) en función del número de ciclos de homogenización y del tiempo de almacenamiento. (A) 1 reciclo, 0 días de almacenamiento; (B) 5 reciclos, 0 días de almacenamiento; (C) 1 reciclo, 7 días de almacenamiento; (D) 5 reciclos, 7 días de almacenamiento.

Diferencias entre valores de parámetros $D(4,3)$ y $D(3,2)$

Cuando los valores de $D(4,3)$ y $D(3,2)$ difieren considerablemente entre sí se presume que las gotas obtenidas resultan más heterogéneas en tamaño y más irregulares, mientras que cuando los valores de $D(4,3)$ y $D(3,2)$ se aproximan da idea de tamaños de gotas más pequeños, homogéneos, esféricos e uniformes (Fabra et al., 2009). En la **Tabla 3** se presentan las diferencias entre los diámetros medios De Broucker $D(4,3)$ y Sauter $D(3,2)$ para cada una de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Las diferencias entre los valores iniciales (a $t=0$) de $D(4,3)$ y $D(3,2)$ son relativamente bajas, independientemente de la formulación analizada



($p > 0,05$). Al procesar las emulsiones con cinco ciclos de homogeneización se espera una disminución en la diferencia entre los dos parámetros, ya que al introducir mayor energía al sistema provocaría una disminución del tamaño de la gota, obteniéndose partículas más homogéneas y uniformes. Sin embargo, y en base a los resultados obtenidos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) cuando se produjo la emulsificación en 1 o 5 etapas. Durante el almacenamiento estanco refrigerado, las emulsiones en estudio no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los valores de $D(4,3)$ - $D(3,2)$.

Tabla 3. Diferencia entre los diámetros medios De Broucker $D(4,3)$ y Sauter $D(3,2)$ para cada una de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases ($\phi=0,20$, 0,25 y 0,30) en función del número de ciclos de homogeneización y del tiempo de almacenamiento.

Formulación	Diferencia $D(4,3) - D(3,2)$			
	1 Etapa		5 Etapas	
	Tiempo (días)		Tiempo (días)	
	0	7	0	7
5:1, $\phi=0,20$	$3,44 \pm 1,78^{abc}$	$3,87 \pm 1,41^{abc}$	$2,70 \pm 1,14^{bc}$	$2,66 \pm 1,05^{bc}$
5:1, $\phi=0,25$	$4,17 \pm 1,68^{abc}$	$3,70 \pm 0,62^{abc}$	$2,10 \pm 0,60^{bc}$	$2,13 \pm 0,56^{bc}$
5:1, $\phi=0,30$	$2,93 \pm 0,46^{abc}$	$3,35 \pm 0,58^{abc}$	$1,84 \pm 0,79^c$	$1,63 \pm 0,35^c$
4:1, $\phi=0,20$	$4,71 \pm 0,75^{abc}$	$4,78 \pm 0,80^{abc}$	$2,57 \pm 0,92^{bc}$	$2,75 \pm 1,01^{bc}$
4:1, $\phi=0,25$	$4,24 \pm 0,66^{abc}$	$4,36 \pm 0,38^{abc}$	$3,22 \pm 2,31^{abc}$	$1,88 \pm 0,4^c$
3:1, $\phi=0,20$	$5,31 \pm 1,51^{ab}$	$6,16 \pm 1,86^a$	$3,17 \pm 1,01^{bc}$	$2,18 \pm 1,22^c$

^{abc} Diferentes índices indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Estabilidad de las emulsiones

En la **Tabla 4** se muestran los valores promedios de backscattering en la zona inferior del tubo para cada una de las emulsiones estudiadas en función de sus formulaciones, número de etapas de homogeneización realizadas y del tiempo de almacenamiento. Todas las emulsiones, ya sean procesadas en 1 o 5 etapas de homogeneización, resultaron estables durante el tiempo de almacenamiento estanco refrigerado. Sólo la emulsión 5:1 $\phi=0,20$ obtenida luego de una etapa de homogeneización presentó signos de desestabilización (disminución abrupta del %BS) luego de 7 días de almacenamiento.

Tabla 4. Valores promedios de backscattering (%BS) en la zona inferior del tubo para cada una de las emulsiones con diferentes relaciones cetogénicas (5:1, 4:1 y 3:1) y relaciones de fases ($\phi=0,20$, 0,25 y 0,30) en función del número de ciclos de homogeneización y del tiempo de almacenamiento.

Formulación	Backscattering (%) en la zona inferior del tubo			
	1 Etapa		5 Etapas	
	Tiempo (días)		Tiempo (días)	
	0	7	0	7
5:1, $\phi=0,20$	$79,62 \pm 4,81^{abcd}$	$51,26 \pm 1,20^f$	$82,35 \pm 3,50^{abc}$	$78,42 \pm 3,75^{abcd}$
5:1, $\phi=0,25$	$82,07 \pm 2,16^{abcd}$	$76,69 \pm 6,16^{abcd}$	$80,39 \pm 3,50^{abcd}$	$78,48 \pm 4,15^{abcd}$
5:1, $\phi=0,30$	$82,34 \pm 2,43^{abcd}$	$79,43 \pm 1,77^{abcd}$	$84,39 \pm 0,46^{abcd}$	$80,63 \pm 2,61^{ab}$
4:1, $\phi=0,20$	$81,70 \pm 1,33^{abcd}$	$77,38 \pm 1,6^{abcd}$	$82,87 \pm 1,40^{abc}$	$75,70 \pm 5,78^{abcd}$



4:1, phi=0,25	81,22 ± 0,41 ^{abcd}	77,67 ± 0,45 ^{abcd}	85,26 ± 0,95 ^a	83,14 ± 0,52 ^{abcd}
3:1, phi=0,20	78,15 ± 1,84 ^{abcd}	75,06 ± 1,90 ^{bcd}	83,47 ± 4,02 ^{abc}	80,95 ± 3,25 ^{abcd}

^{abcdef} Diferentes índices indican diferencias significativas ($p < 0,05$).



CONCLUSIONES

Se obtuvieron emulsiones O/W empleando aceite de arroz y dispersiones acuosas de harina de soja. El aumento en el número de etapas de homogeneización permitió obtener emulsiones con distribuciones de tamaño de partículas más homogéneas. Todas las emulsiones estudiadas, excepto la 5:1 $\phi=0,20$ procesada en 1 etapa de homogeneización, resultaron estables durante siete días de almacenamiento estanco refrigerado. Las emulsiones formuladas resultan promisorias para desarrollar alimentos con elevado contenido lipídico, aptos para incluir en dietas cetogénicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aoki, H., Taneyama, N., Orimo, N., & Kitagawa, I. 1981. Effect of lipophilization of soy protein on its emulsion stabilizing properties. *Journal of Food Science*, 46, 1192–1195.
- Armeno, M., Caraballo, R., Vaccarezza, M., Alberti M. J., Ríos, V., Galicchio, S., S.de Grandis E., Mestre, G., Escobal, N., Matarrese, P., Viollaz, R., Agostinho, A., Díez, C., Cresta, A., Cabrera, A., Blanco, V., Ferrero, H., Gambarini, V., Sosa, P., Bouquet, C., Caramuta, L., Guisande, S., Gamboni, B., Hassan, A., Pesce, L., Argumedo, L., Dlugoszewski, C., DeMartini, M., Panico, L. 2014. Consenso nacional sobre dieta cetogénica. *Revista Neurología*; 59 (5): 213-223
- Freeman, J.M., Vining, E. P., Pillas, D. J., Pyzik, p. L., Casey, J. C., and Kelly, L. A. M. T. 1998. *Pediatrics*, 102(6):1358-1363.
- Desrumaux, A., Marcand, J. 2002. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect of pressure on emulsion characteristics. *International Journal of Food Science and Technology* 37 (3), 263–269.
- Gutierrez JM, Gonzalez C, Maestro A, Sol_e I, Pey CM, Nolla J. 2008. Nanoemulsions: new applications and optimization of their preparation. *Curr Opin Colloid*; 13:245e51.
- Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy protein. *Journal of American Oil Chemists Society*, 56, 242–258.
- Kossoff, E. H., Zupec-kania, B. A., Amark P. E., Ballaban-Gil, J. R., Christina Berq-vist, A. G., Blackford, R., Buchhalter, J. R., Caraballo, R. H., Helen Cross, J., Dahlin, M. G., Donner, E. J., Keppler, J., Jehle, R.S., Kim, H.D., Christiana Liu; Y. M., Nation, J., Nordli, D. R., Pfeifer, H. H., Rho, J. M., Stafstrom, C. E., Thiele, E. A., Turner, Z., Wirrell, E. C., Wheless, J. W., Veggiotti, P., and Vining, E. P. G. 2009. Optimal clinical management of children receiving the ketogenic diet: recommendatios of international Ketogenic Diet Study group. *Epilepsya*, 50(2):304-17.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F. 2002. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113, 71-88.
- McClements, M. J. 1999. Emulsion ingredients. In: *Food emulsions principles, practice and techniques* (pp. 83–124). New York: CRC Press.
- Orthofer, F. T. 2005. Rice bran oil. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products* (volume 6, pp. 465e489). New York: Jonh Wiley & Sons.
- Stafstrom, C. E., and Rho, J. M. 2012. The ketogenic diet as treatment paradigm for diverse neurological disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 3:59.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa America Pampa S.A. por haber donado la muestra de harina de soja para realizar la investigación. Este trabajo de investigación fue financiado por la Universidad Nacional de Entre Ríos a través del proyecto PID Novel N° 8090 y por el CITER (Centro de Investigaciones y Transferencia de Entre Ríos (CONICET-UNER)).

