

3
245



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

EVALUACION BIOLOGICA DE PRODUCTOS
ELABORADOS CON FRIJOL ENDURECIDO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

CONSUELO AVENDAÑO LOPEZ



MEXICO, D. F.

1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

275026



Universidad Nacional
Autónoma de México

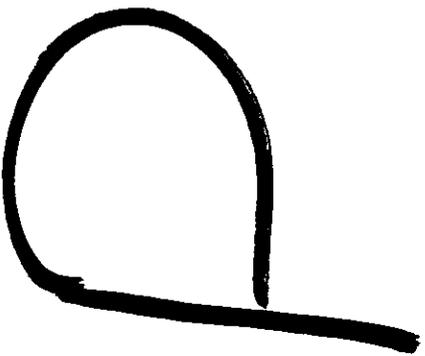
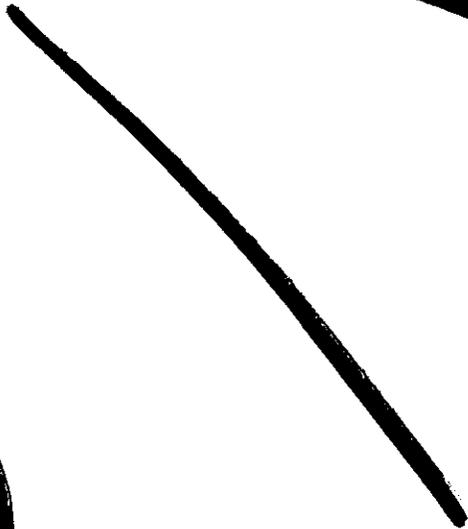
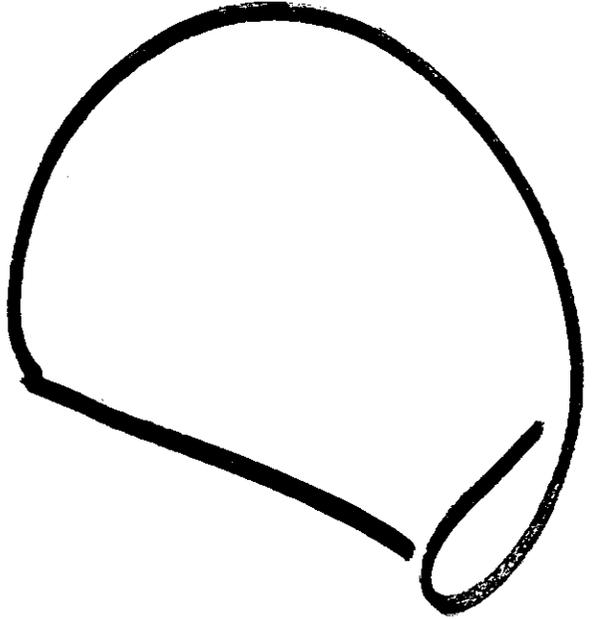


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



JURADO ASIGNADO:

Presidente **Prof. Zoila Nieto Villalobos.**

Vocal **Prof. Bernardo Lucas Florentino.**

Secretario **Prof. Lucía Cornejo Barrera.**

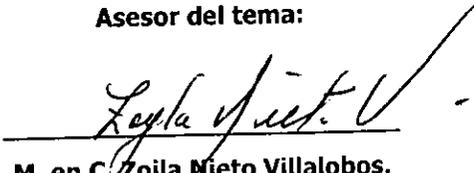
1er. Suplente **Prof. María Eugenia Quintino Cintora.**

2do. Suplente **Prof. Gloria Ruiz Díaz.**

Sitio donde se desarrolló el tema

Laboratorio 4B, Departamento de Alimentos y Biotecnología.

Asesor del tema:



M. en C. Zoila Nieto Villalobos.

Sustentante:



Consuelo Avendaño López.

DEDICATORIA:

A **DIOS** por todo lo que me ha dado

A **MI MAMÁ FRANCIS** por el amor y el apoyo incondicional durante toda mi formación **MUCHAS GRACIAS.**

A **LA MEMORIA DE MI PAPÁ J. GUADALUPE** por el amor, cariño y el consejo que me enseñó a ver el valor de las cosas de otra manera.

A MIS HERMANOS:

Evaristo, Teresa, Juan, Rita, Victor, Arturo, Alfonso Y Remedios por todos los momentos que día a día compartimos, y el apoyo de cada uno me han dado con el ejemplo, la paciencia, la persistencia, el trabajo, la dedicación y tanto otras cosas **GRACIAS.**

A mis sobrinas Susana, Leticia, Edith, Mónica y Viviana que las quiero mucho.

AGRADEZCO ESPECIALMENTE A:

M.en C. Zoila Nieto Villalobos por su valiosa dirección y apoyo en la realización de esta tesis.

Maestra Imelda por el apoyo en la revisión bibliográfica en el centro de investigación científica

Todas las personas que de alguna manera participaron en la realización de este trabajo.

A mis amigos:

Rebeca por la comprensión y cariño en primer semestre, a Liliana por la confianza y el cariño, Selene gracias por escucharme, Frida por ser como eres y compartir conmigo momentos muy gratos gracias, Lety por tu cariño y amistad, Ivonne por el cariño sincero y apoyo que me has ofrecido, Ericka por la comprensión y afecto que te tengo, Abigail por el entusiasmo que siempre contagias, Lucero por ser como eres, Margarita por la simpatía que nos une, Juan Carlos G. porque algún día cambies, Sonia por la amistad que correspondes, Gaby mi amigüita, Juan por la gracia con que siempre tomabas las cosas, Horacio por tu apoyo y amistad gracias (pero ya madura), Edith por la sinceridad en tu amistad, Ale, Pepé, Toño gracias por el afecto que es reciproco.

En el peregrinar de la vida hay que aprender a sembrar para poder cosechar los frutos de la recompensa como son: el amor, la amistad, la paz y la soledad que reconfortan al espíritu.

CONSUELO AVENDAÑO LÓPEZ

CONTENIDO

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
CAPITULO II. ANTECEDENTES	3
2.1 LEGUMINOSAS	3
2.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DEL FRIJOL	3
2.3 FENÓMENO DE ENDURECIMIENTO	6
2.3.1 MODELO DE PECTINA-CATION-FITATO	11
2.3.2 LIGNIFICACIÓN CELULAR	13
2.3.3 MECANISMO MÚLTIPLE DEL FENÓMENO DE ENDURECIMIENTO	16
2.4 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA PROTEÍNA	19
2.4.1 PRUEBAS PARA EVALUAR LA CALIDAD DE UNA PROTEINA	21
2.4.1.1 PRUEBAS QUÍMICAS	21
a) ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	21
b) SCORE O CUENTA QUÍMICA	22
2.4.1.2 MÉTODOS BIOLÓGICOS	22
PER RELACIÓN DE EFICIENCIA PROTEICA	22
NPR RETENCIÓN NETA PROTEICA	24
BALANCE DE NITRÓGENO	26
DIGESTIBILIDAD	26
2.5 SUPLEMENTACIÓN	27

<u>2.6 DEFICIÓN DE LOS PRODUCTOS A DESARROLLAR</u>	<u>29</u>
<u>2.6.1 GALLETAS DULCES</u>	<u>29</u>
<u>2.6.2 PASTAS ALIMENTICIAS</u>	<u>29</u>
<u>CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS</u>	<u>33</u>
<u>3.1 MUESTRAS</u>	<u>35</u>
<u>3.2 PROCESO DE ENDURECIMIENTO</u>	<u>38</u>
<u>3.3 DESARROLLO DE PRODUCTOS ELABORADOS</u>	
<u>CON HARINA DE FRIJOL ÉNDURECIDO</u>	<u>40</u>
<u>3.3.1 ELABORACION DE PASTAS ALIMENTARIAS TIPO TALLARÍN</u>	<u>40</u>
<u>3.3.2 ELABORACION DE GALLETAS DULCES TIPO "MARIÁS"</u>	<u>42</u>
<u>3.4 PRUEBA DE CALIDAD DE PRODUCTOS</u>	<u>44</u>
<u>3.5 PREPARACIÓN DE DIETAS PARA LA EVALUACIÓN</u>	
<u>BIOLÓGICA POR MEDIO DE LA REP</u>	<u>44</u>
<u>CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	<u>48</u>
<u>CAPITULO V. CONCLUSIONES</u>	<u>59</u>
<u>CAPITULO VI. BIBLIOGRAFÍA</u>	<u>61</u>

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores problemas que se han presentado en los últimos años en el manejo de granos, durante el almacenamiento; es el endurecimiento, éste generalmente se debe a una alta humedad y altas temperaturas generadas en el almacén; ocasionando un deterioro en la calidad nutricia del grano, aumentando el tiempo de cocción y afectando las características sensoriales del grano.

Debido a que se tienen en algunos almacenes gran cantidad de frijol endurecido, se han realizado diferentes estudios dirigidos a generar alternativas para que no se dé ese fenómeno y otras para darle un uso a ese frijol endurecido en almacén, elaborando productos a partir de cereales y frijol, con la finalidad de elevar la calidad nutricia de los productos elaborados. Tales productos son: pasta alimenticia tipo tallarín, galletas dulces, pan blanco tipo bolillo, bebida fermentada láctica, un producto tipo tempeh y algunos otros productos que pueden utilizar esta materia prima (4). De los productos antes mencionados los dos primeros serán desarrollados en el presente trabajo, se les evaluará su calidad nutricia mediante una prueba biológica (Relación de eficiencia proteínica, PER) con ratas. Para corroborar la hipótesis de que se eleva el valor nutricional de estos productos al complementarlos con la leguminosa a pesar de estar endurecida.

OBJETIVOS:

- Desarrollar productos extendidos de harina de trigo con frijol endurecido (galletas tipo "María" y pastas tipo tallarín).
- Evaluar y determinar la calidad nutricia mediante la prueba biológica de relación de eficiencia proteínica (PER) de los productos elaborados, comparándolos con un estándar (caseína) y con productos sin frijol.

CAPITULO II. ANTECEDENTES.

2.1 Leguminosas

La familia Leguminosae se compone de unas 18 mil especies, de las cuales se aprovechan como alimento humano apenas unas 30, en la mayoría de los casos como semillas maduras, pero a veces también se utilizan sus vainas, raíces o frutos.

De las semillas maduras, tienen gran importancia las del frijol común, la lenteja, el haba, el garbanzo, el frijol de soya, el chícharo y el cacahuete. Estas especies, se producen y se utilizan en casi todo el mundo. Además de las semillas leguminosas de uso mundial, en distintas regiones se agregan las de uso local, como el lupino en los Andes y en los Alpes, el guandú en el Caribe, el caupí en Centroamérica, el mungo y el frijol alado en Oriente y el ayocote, el mezquite y el guaje en algunas regiones de México (1).

2.2 Composición química y nutricional del frijol.

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) tiene una composición química que depende de la variedad, pero que en promedio, se tienen valores para proteína entre 18 y 25%, para el contenido de grasa o extracto etéreo, de 0.8 a 2.2%; para fibra cruda de 5 a 7%, para cenizas de 4 a 6.5%; de extracto libre de nitrógeno de 47 a 71%. El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es considerado un alimento de buena calidad aunque contiene ciertos factores antinutricionales como son hemaglutininas o lectinas, las saponinas, los inhibidores de enzimas (tripsina, quimotripsina y amilasas), isoflavonas, compuestos que producen

flatulencia, taninos; y en otras leguminosas, se ha encontrado compuestos que producen efectos como: favismo, latirismo y bocio, los cuales hasta a la fecha no se han encontrado en los frijoles comunes, pero si se encuentran algunas antiocianinas y flavonoides, los cuales tienen un ligero efecto bociogénico; cuando el frijol es preparado para su consumo usualmente es remojado antes de la cocción. El remojo en agua puede reducir el tiempo de cocción y disminuir el contenido de ciertos factores antinutricionales que se eliminan al tirar el agua del remojo.

En el frijol también se encuentra en mayor o en menor grado los oligosacáridos rafinosa, estaquiosa y verbascosa que no son digeribles por el sistema digestivo humano, ya que no contiene la enzima α -galactosidasa por los que estos compuestos permanecen indigeribles y sujetos a una fermentación microbiana anaerobia en el ciego ocasionando como resultado la producción de gases que generan la flatulencia (1,2 y 5).

En general, las leguminosas son buenas fuentes de calcio, y de fósforo, son ricas en hierro; sin embargo, por la abundancia de fitatos, el calcio y el hierro son poco biodisponible, así mismo tienen un alto contenido de tiamina y riboflavina.

En México, el frijol (tabla 1) es la leguminosa más consumida y tiene a su favor siglos de experiencia culinaria y la existencia de numerosas variedades como el garbanzo del que

México es gran productor y la lenteja, las demás semillas de leguminosas se consumen poco y tiene un precio que dobla al del frijol (1,2,3,8).

Tabla 1. Composición química del frijol común (*Ph vulgaris*) g por 100 g de material en base húmeda, a un contenido de humedad entre 10-12%.

Variiedad	Proteína (%)	Energía 100g	Grasa (%)	Carbohidratos (%)	Tiamina mg	Riboflavina (mg)	Niacina (mg)	Calcio (mg)	Hierro (mg)
Amarillo	14.2	337	1.7	67.1	0.62	0.12	2.1	347	4.8
Ayocote	15	343	1.7	68.0	0.42	0.19	1.9	116	5.9
Azufrado	20.9	337	1.5	61.9	0.52	0.14	1.3	254	5.3
Bayo gordo	22.7	332	1.8	58.5	0.69	0.14	1.7	200	5.7
Blanco	22.5	312	2.7	52.0	0.60	0.15	1.8	185	4.6
Garbancillo	18.0	340	1.7	66.4	0.54	0.14	1.7	300	4.9
Palacio	22.2	344	1.5	62.4	0.85	0.13	1.6	759	6.9
Rosita	19.2	373	6.2	61.0	0.74	0.17	1.5	105	8.9
Ojo de cabra	17.5	328	1.5	62.0	0.72	0.13	1.5	307	5.2
Negro	21.8	322	2.5	55.4	0.63	0.17	1.8	183	4.7

Las leguminosas comerciales son almacenadas bajo una gran variedad de condiciones. Éstas afectan la calidad nutritiva y el estado de conservación del frijol. Las mayores pérdidas de este grano son en las etapas de pre y post-cosecha. En los países en desarrollo las pérdidas en la postcosecha rebasan el 50 % de la producción de estas debido principalmente a la falta de infraestructura en los almacenes de granos de leguminosas(3).

Por otra parte existen pérdidas cuantitativas de esta leguminosa durante su almacenamiento, ocasionadas tanto por factores físicos, y de operación como son: humedad, temperatura, manejo deficiente durante su transporte, almacenamiento e industrialización; así como factores biológicos que incluyen el ataque por insectos, hongos y aves, que no solamente reducen la cantidad de grano sino también la calidad, ya que contaminan las semillas con sus desechos orgánicos, y en el caso de los hongos además de impartirle olores desagradables, los contaminan con micotoxinas que constituyen un grave problema para la salud humana (6,8).

2.3 Fenómeno de endurecimiento.

Se conoce como proceso de endurecimiento al conjunto de eventos de orden físico, químico y nutricional del grano almacenado inadecuadamente.

Antes de continuar es preciso aclarar que las investigaciones relacionadas al endurecimiento del frijol, se enfocan única y exclusivamente al grano destinado para el consumo humano y en lo que respecta a las características de cocción, al grano endurecido por condiciones inadecuadas de almacenamiento, ya que también existen granos recién cosechados que presentan diferencias en el tiempo de cocción, inherentes a factores propios del grano debidos a aspectos de orden genético-agronómico (Figura No.1).Las investigaciones relacionadas al tema de endurecimiento son bastante recientes, no así el problema como tal. A continuación se presentará una revisión de los aspectos más relevantes de dichas investigaciones.

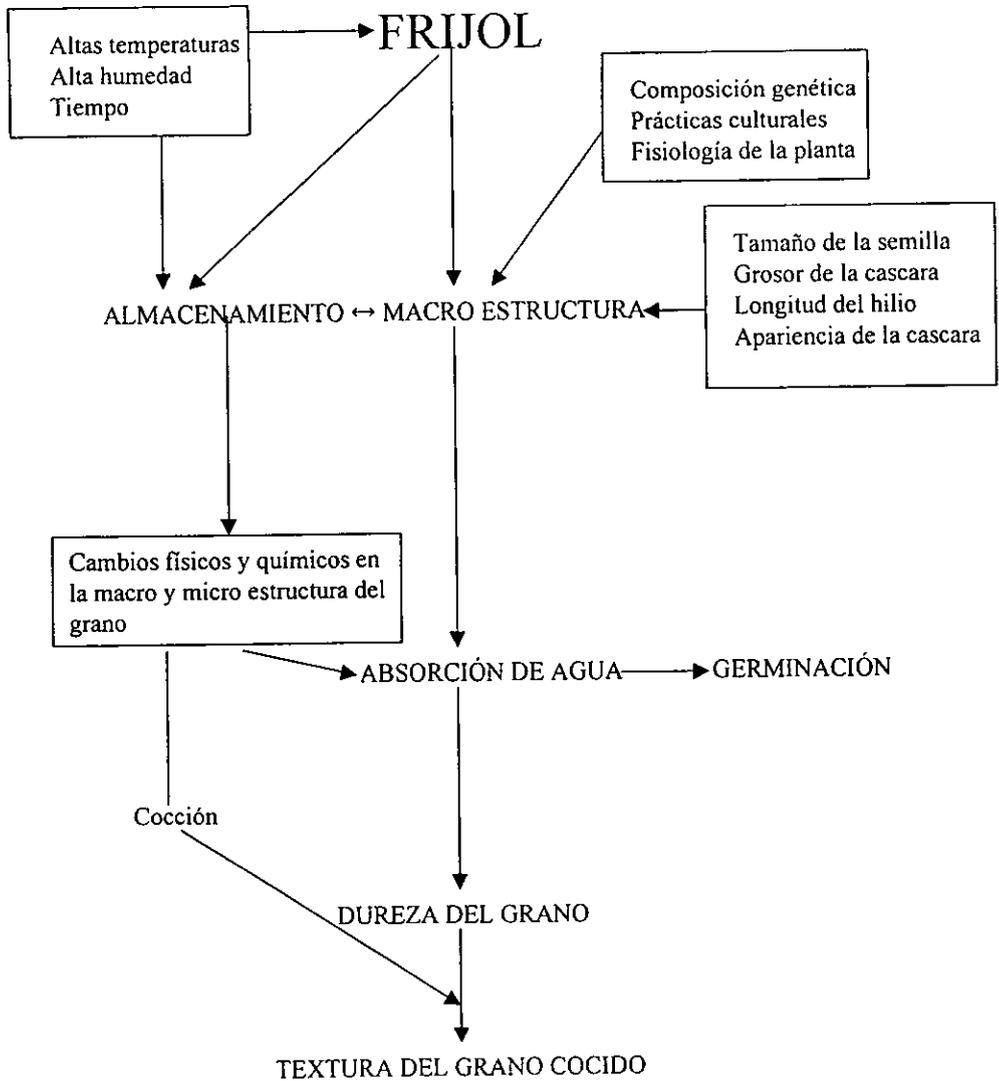


Figura No.1 Hipótesis sobre el proceso general de endurecimiento del frijol (9).

La velocidad y el grado de endurecimiento dependen de las características fisicoquímicas del grano, así como también de las condiciones de almacenamiento, de éstas en orden de importancia se encuentran: la humedad y la temperatura del grano, la humedad relativa (H.R) del ambiente, la temperatura del almacén y el tiempo de almacenamiento.

El término capacidad de hidratación o absorción de agua por parte del grano, es un parámetro fisicoquímico que implica dos aspectos: el primero que se relaciona con la facilidad de penetración del agua a través de la cascara o testa y el segundo a la capacidad de penetración y difusión uniforme del agua a través del cotiledón. Todo esto a su vez esta relacionado con la estructura y composición de la testa y cotiledón así como la relación entre ambos (testa-cotiledón).

El grosor y la textura de la testa, tamaño del hilio así como la forma y tamaño del micrópilo son responsables de la penetración del agua (ver figura No.2). Estudios posteriores confirman al grosor de la testa y al tamaño del hilio como factores responsables de la mayor cantidad de agua absorbida durante las primeras 12 horas de remojo.

En el fenómeno de endurecimiento pueden suceder diferentes efectos que son:

- ◆ Endurecimiento debido a granos de cascara dura (hard shell), éstos presentan problemas de permeabilidad de la cascara al agua, lo que se refleja en la capacidad de hidratación lenta que afecta directamente el proceso de germinación e indirectamente a los tiempos de cocción.

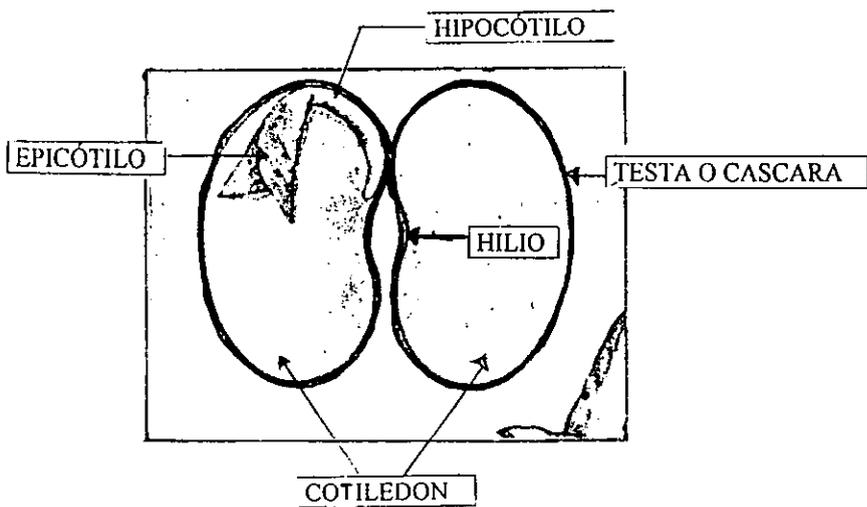
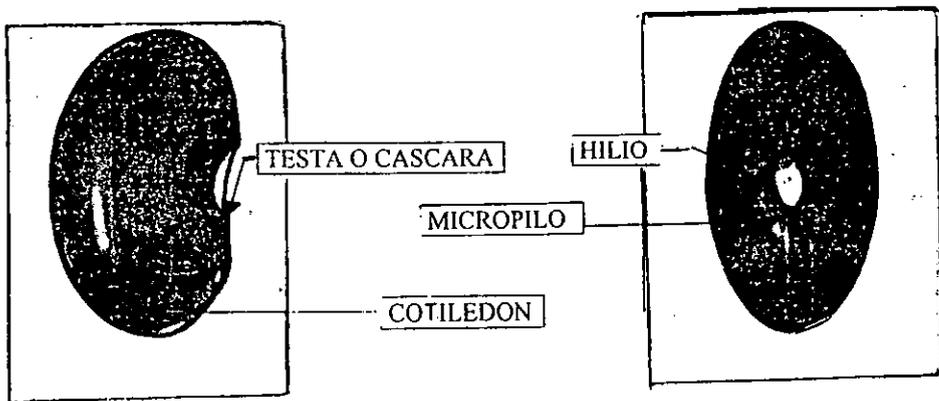


Figura No.2. Esquema del frijol

- ◆ Endurecimiento debido a granos difíciles de cocer (hard-to-cook), éstos presentan problemas de permeabilidad de los cotiledones al agua, aparentemente el grano presenta una capacidad de hidratación normal, sin embargo el agua queda entre la testa y los cotiledones no migrando al interior del cotiledón por lo tanto aumentando el tiempo de cocción (13,16).

Entre otros de los factores fisicoquímicos que afectan en mayor o menor grado la capacidad de hidratación de los granos; se encuentran: tamaño del grano, porcentaje de cascara, contenido de taninos (polifenoles) y pectinas. Se ha demostrado que durante el remojo gran parte del agua se queda entre la testa y los cotiledones cuando se trata de frijol endurecido mientras el grano suave no presenta problemas para absorber el agua.

También se ha encontrado que el frijol endurecido, pierde más sólidos durante el remojo que el frijol suave, sobre todo si el remojo se hace a 50°C o a temperaturas mayores.

De acuerdo a lo anterior podría pensarse que la capacidad de absorción de agua juega un papel muy importante en la textura del grano durante su cocción, sin embargo, esto no sucede así, ya que algunos autores sólo lo relacionan en la parte inicial del proceso de cocción, puesto que la textura final del grano estará dada por la combinación agua-calor sobre determinados componentes bioquímicos del frijol; el hecho de que el frijol endurecido presente un aumento en el tiempo de cocción, sugiere anomalías en el curso de los eventos antes descritos. Estas anomalías no son más que mecanismos

que involucran a las mismas sustancias y que se presentan como consecuencia del proceso de endurecimiento.

Los mecanismos involucrados en el desarrollo del fenómeno de endurecimiento no han sido dilucidados satisfactoriamente. La mayoría de los investigadores han ubicado el desarrollo de endurecimiento a nivel de cotiledones y para explicarlo han propuesto varias hipótesis: oxidación y/o polimerización de lípidos, formación de pectatos insolubles, lignificación de la lamela media e interacción de mecanismos múltiples. Recientemente, algunos investigadores (14,27) han señalado que el desarrollo del endurecimiento se da tanto en cotiledones como en la testa. El endurecimiento del frijol común ha sido reportado como un problema de importancia económica y tecnológica, ya que disminuye el valor nutritivo, culinario y comercial del grano.

Los mecanismos mencionados anteriormente afectan en mayor o en menor grado el proceso de cocción, sin embargo, alguno de ellos no sólo se limitan a este hecho, sino que también afectan negativamente el valor nutritivo y las características organolépticas del producto. Tal es el caso de los mecanismos que involucran a las proteínas, polifenoles y ácidos grasos (13).

La composición de los lípidos aparentemente no tiene relación con el tiempo de cocción; sin embargo, el hecho de que predominan los ácidos grasos insaturados en la composición total de los lípidos, aumenta la probabilidad de oxidación que puede

continuar en un proceso de polimerización. Afectándose de esta manera la permeabilidad del cotiledón a la penetración del agua.

Los procesos de hidrólisis y oxidación de los que son objeto los ácidos grasos insaturados son los responsables del deterioro de sabor que en muchas ocasiones presenta el frijol endurecido.

De acuerdo con las investigaciones realizadas hasta la fecha, existen dos teorías muy extendidas sobre los efectos del endurecimiento del frijol. La primera señala a la capacidad de absorción de agua del grano, durante el remojo y la cocción como el factor más importante (conocido como Modelo de pectato cation fitato). La segunda involucra cambios estructurales de tipo bioquímico que pueden correlacionarse con reacciones químicas específicas (Lignificación celular).

De acuerdo con la configuración del grano, los cambios físicos y químicos afectan su textura, haciendo que el porcentaje de absorción de agua sea proporcional al tiempo de remojo.

También informan que los mecanismos involucrados en el fenómeno de endurecimiento son muy complejos y que varía de acuerdo con el tiempo de almacenamiento del frijol.

Aunque una de las manifestaciones del envejecimiento es el incremento progresivo en la dureza del grano, el cual se hace evidente durante la cocción además de que implica un deterioro en la calidad nutricia del grano (6,9 y 27).

Este fenómeno ocurre con cierta frecuencia en las áreas tropicales y subtropicales en donde la temperatura y la humedad ambiental son elevadas, provocándose el fenómeno del endurecimiento durante el tiempo que este almacenado el grano.

Por eso, algunas de las explicaciones de los mecanismos involucrados en el fenómeno de endurecimiento han sido enfocadas por muchos estudios científicos, y han estado sujetos a revisiones en años recientes (12,13,14). Dentro de las hipótesis postuladas para entender el endurecimiento en las leguminosas están:

1. Modelo de Pectina-Cation-Fitato.

2. Lignificación celular

3. Mecanismo múltiple

A continuación se esbozarán las bases de cada hipótesis:

2.3.1. Modelo de Pectina-Cation-Fitato.

Los eventos moleculares responsables de la cocción del frijol no han sido establecidos con precisión, sin embargo, se ha demostrado que la suavización del frijol durante la cocción va acompañado de la solubilización de las pectinas. Las pectinas son polímeros metilados de ácido galacturónico asociados con iones divalentes, principalmente calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}). Se encuentran localizados en la pared celular de las células del cotiledón y su función es darle rigidez al grano. Durante la cocción la interacción de iones divalentes de la pectina debe disminuir para permitir el intercambio iónico, esto es, los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} de los pectatos insolubles se intercambian con los iones sodio (Na^+) y

potasio (K^+) de los fitatos solubles, produciéndose fitatos de Ca^{2+} y Mg^{2+} así como pectatos solubles de Na^+ y K^+ , estos últimos son responsables directos de la suavización del grano. El tiempo requerido para que esta solubilización se efectúe se reflejará en el tiempo de cocción (13).



Donde M = cation

Se encontró que el contenido de ácido fitico y calcio tiene relación con la calidad de cocción. Más tarde se confirmó que el endurecimiento en almacén es el resultado en el descenso en el contenido de ácido fitico y de alteraciones de cationes mono y divalentes en el tejido (13).

El mecanismo de reducción de la solubilización de la pectina se supone se debe a una mayor actividad de la fitasa actuando sobre la fitina, liberando calcio y magnesio que se une a las pectinas de la lamela media, haciéndolas insolubles, lo que se facilita por la demetilación de las pectinas que aumenta el número de carbonilos libres. Por lo tanto él incrementó en el contenido de humedad por una alta humedad relativa en almacén es uno de los factores claves en el inicio del endurecimiento del frijol, restringiendo el metabolismo e iniciándose el rompimiento de las membranas celulares que va a causar pérdida o merma de solutos y bajos valores de imbibición, permitiendo el acceso de cationes divalentes de la fitina los cuales facilitan la hidrólisis de las pectinas (13).

Por lo anterior se ha relacionado que la cantidad de pectato monovalente y divalente depende del contenido de ácido fitico (en la pared celular), de la composición iónica y del pH del medio.

Este proceso comúnmente conocido como la reacción de β -eliminación, ha sido ligado con los cambios de textura relacionada con el calentamiento de muchas especies de leguminosas.

Para que se lleve a cabo la reacción de β -eliminación de la pectina es necesario mantener el pH del medio, entre valores de 4 a 7, a pesar de que se sabe que la cocibilidad de varias semillas leguminosas es mejor a pH ácidos.

2.3.2. Lignificación celular.

Durante el crecimiento y desarrollo, de algunas plantas, estas tienden a tener una pared secundaria que contiene lignina y otros polímeros. La lignina es un derivado de la oxidación por cualquier vía enzimática o no enzimática y la subsecuente polimerización de fenoles, tales como alcoholes cumarínico, coniferínico y sinapsínico. El proceso biológico es referido como lignificación. Las enzimas polifenol-oxidasa y peroxidasas están involucradas en la lignificación. Las proteínas de la pared celular también pueden estar involucradas en la interacción con sustancias fenólicas.

Los pigmentos que caracterizan los diferentes colores de las semillas se encuentran localizados en la testa. Entre éstos, los polifenoles han sido objeto de estudios con el

propósito de evaluar su significado desde el punto de vista nutritivo y tecnológico sugiriendo una posible relación entre el contenido de polifenoles y el proceso de desarrollo de la dureza del frijol durante el almacenamiento (13).

Las causas bioquímicas de este fenómeno no está bien definidas, sin embargo, se sabe que el endurecimiento acelerado del frijol, va acompañado de cambios en su composición química, y en ellos están involucrados los polifenoles. Los polifenoles más comunes en las leguminosas son los taninos y los flavoides. Se dice que existe una relación entre el contenido de taninos condensados en los cotiledones y el desarrollo de la firmeza durante el almacenamiento del grano, ya que sus resultados indican una disminución significativa en el contenido de taninos en los cotiledones de frijol común durante el tiempo de almacenamiento, lo que se acompaña de un incremento de la actividad de la polifenol-oxidasa, de la dureza y del tiempo de cocción del grano. La disminución del contenido de taninos fue más evidente a mayor humedad del grano y mayor temperatura de almacenamiento (6,13).

A este respecto se sugiere que el contenido de catequinas tiene una relación directa con la absorción de agua y se postula que ese efecto en la estructura de la testa podría deberse a la polimerización de los fenoles por acción de la polifenol-oxidasa y también a la probable formación de compuestos complejos proteínicos con compuestos fenólicos.

Otros autores (6,13 y 15) han demostrado que existe un aumento en la formación de proteína lignificada del cotiledón en granos de frijol negro almacenados a 25°C. Asimismo,

se encontró una alta correlación entre la fracción de proteína lignificada y la dureza del grano.

Los compuestos resultantes de la unión de proteínas y compuestos fenólicos no son metabolizados por el hombre, de ahí que se diga, que tales compuestos disminuyen el valor nutricional del producto. Por otra parte, la pérdida de polifenoles durante el proceso de endurecimiento podría estar relacionado con la pérdida de sabor y color del agua de cocción del frijol endurecido.

En un estudio realizado con 13 variedades de garbanzo y frijol. Se analizó químicamente el contenido de lignina y se obtuvo que el garbanzo tiene mayor contenido de lignina que otras variedades de leguminosas (13). En otro estudio (26) reportaron que bajo condiciones de temperatura y humedad relativa elevadas de almacenamiento se produce un incremento considerable en la lignificación de proteínas lo cual esta estrechamente relacionado con el desarrollo del endurecimiento.

En otro estudio realizado para esclarecer la lignificación se midieron el contenido de fitatos y la cantidad de fenoles extraíbles durante el tiempo de almacenamiento. Los resultados obtenidos mostraron variación en contenido de fitatos en los meses iniciales mientras los cambios para los fenoles extraíbles fueron más notorios en los meses finales de almacenamiento (13,32). Considerando los resultados del trabajo anterior los investigadores proponen un mecanismo múltiple para el endurecimiento de la leguminosa, la pérdida de fitatos considerada como contribuidor mínimo del defecto de

endurecimiento durante un almacenamiento a corto tiempo y el mecanismo de los fenoles como principal contribuidor durante un almacenamiento de tiempo prolongado.

2.3.3. El mecanismo múltiple del fenómeno de endurecimiento.

Liu (13), reportó el mecanismo múltiple para explicar el fenómeno de endurecimiento integrando los conocimientos actuales al respecto en las semillas de leguminosas, con énfasis en los cambios celulares y biológicos durante el almacenamiento y remojo, y los cambios fisicoquímicos durante la cocción.

Basándose en los estudios actuales del endurecimiento de las semillas, el modelo múltiple se muestra en la figura No.3. La serie de eventos potenciales para el desarrollo del defecto de endurecimiento en las semillas leguminosas se presentan en tres etapas: almacenamiento, remojo y cocción. Al parecer el problema del endurecimiento se inicia con un almacenamiento incorrecto, y continua con el tiempo que permanezca en ese almacenamiento inadecuado provocándose el endurecimiento que se manifiesta en la etapa de la cocción.

Durante todos los pasos o etapas anteriores, hay muchos factores involucrados. Para entender el mecanismo del desarrollo de endurecimiento, se puede hacer una evaluación de las secuencias de eventos y la relación causa/efecto entre los acontecimientos.

- **Almacenamiento.** La formación de radicales libres, la peroxidación de lípidos, formación de ácido, y el deterioro de las membranas son efectos asociados con el envejecimiento.

- **Remojo.** Se relaciona con eventos de pérdida y redistribución de iones
- **Cocción.** En esta etapa se presenta la descomposición y solubilidad de la pectina, la coagulación de proteínas, y la gelatinización del almidón.

La cocción de la semilla endurecida es caracterizada por el límite de separación de la célula y la restricción de la gelatinización del almidón. Esta fracción defectuosa tiene como resultado tres propiedades básicas que las células de las semillas endurecidas manifiestan durante la cocción: (1) la restricción a la descomposición de la pectina de la pared celular, (2) impedimento a la solubilidad de la pectina de la pared celular, y (3) predomina la coagulación de la proteína sobre la gelatinización del almidón debido a la correspondiente competencia por el agua. Estas propiedades son resultado del decremento de la solubilidad y estabilidad térmica de la proteína intracelular durante el envejecimiento (13,14).

Las moléculas de pectina de la pared celular y la proteína de almacenamiento, son coloides anfoteros, que están involucrados directamente en los cambios en fenómeno de endurecimiento y son afectados por dos factores principales: el pH y la fuerza iónica. Lo cual se resume en la tabla No. 2.

Tabla No.2. Resumen de componentes intracelular del frijol que se afectan por el pH y fuerza iónica.

Componentes	pH	Iones
Pectina	4-5	K^+ y Na^+ promueve la ruptura de las pectinas
Lignificación celular	4-7	Reacción de β -eliminación
Proteína	Isoeléctrico	Los cationes divalentes causan desnaturalización
Fitato		PO_4^{3-} y CO_3^{2-} son buenos quelantes de los fitatos

De acuerdo con la revisión bibliográfica sobre los cambios observados por diferentes investigadores durante el endurecimiento del frijol en almacén, se pueden resumir los siguientes puntos:

- El endurecimiento del frijol causa la disminución del poder de absorción de agua, tanto en la cascarilla como en el cotiledón de la semilla.
- Tiene efecto sobre la disminución en el poder germinativo y del vigor de la semilla.
- Causa un aumento de la cantidad de cationes divalentes (Ca^{2+} y Mg^{2+}) en el exterior del cotiledón y disminución de los cationes monovalentes (Na^+ y K^+) durante el remojo y cocción de frijol.
- Se ha observado una disminución del contenido de sustancias pécticas insolubles debido a la acción quelante del ácido fitico fosforado sobre este.

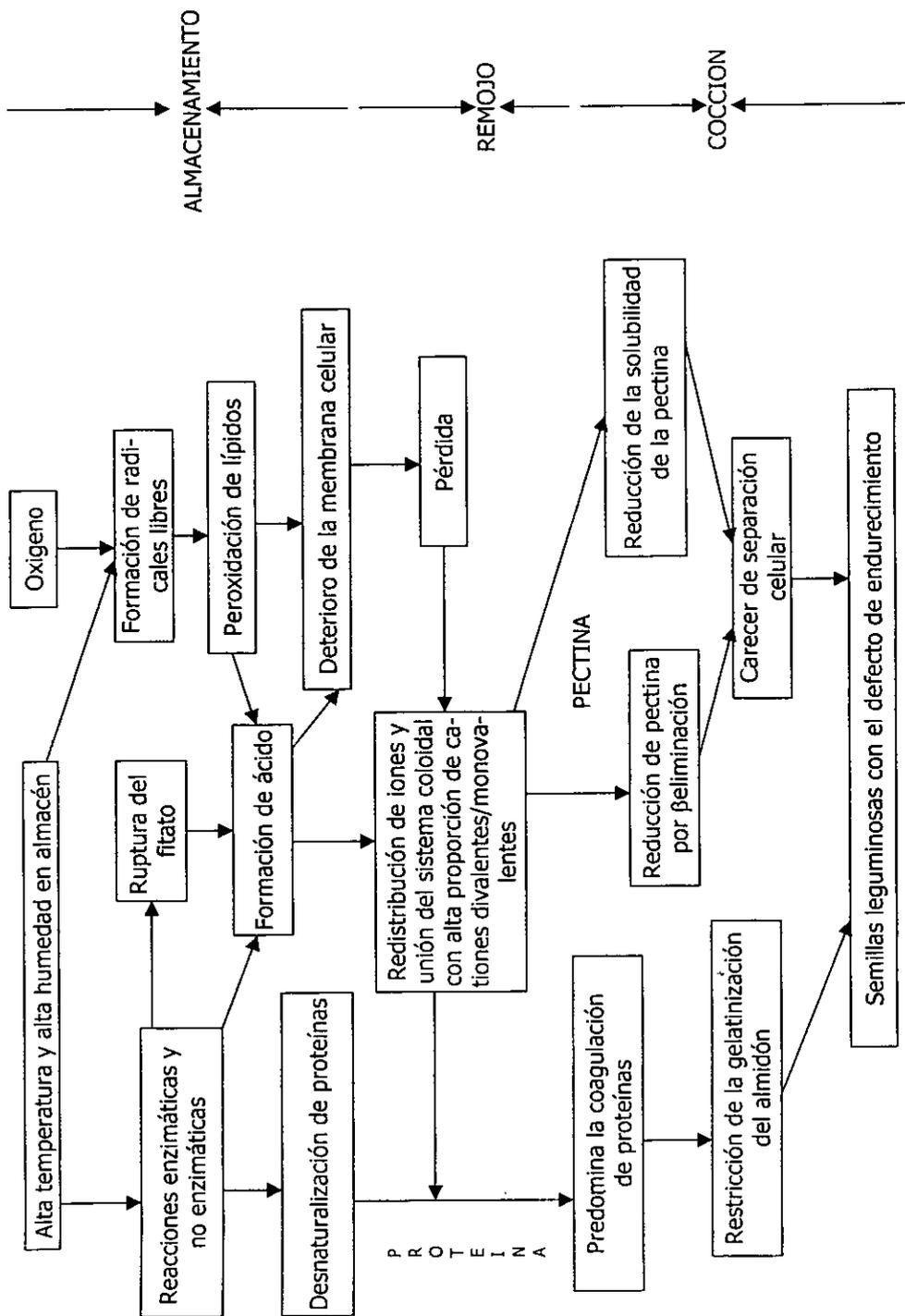


Figura 3. Mecanismo múltiple para el endurecimiento de las semillas leguminosas (13).

2.4 Evaluación de la calidad de la proteína.

La calidad de los nutrimentos en los alimentos puede ser evaluados por determinación de la composición química del alimento. Mediante la determinación del contenido de proteína cruda, que es la concentración de las proteínas en los alimentos y se estima de manera convencional por la cantidad de nitrógeno presente, medido por el método de Kjeldahl, así mismo por métodos químicos se pueden determinar el contenido de los demás componentes del alimento.

Los valores obtenidos por este análisis, se comparan con los requerimientos estimados para el hombre en un nutrimento en particular, de esta manera se calcula el valor nutricional y energético de un alimento, para la etiqueta nutrimental.

Actualmente se mide el perfil de aminoácidos, el cual da una determinación más aproximada que el análisis de proteína cruda. El análisis de aminoácidos se ha efectuado por cromatografía de intercambio iónico (autoanalizador) y métodos microbiológicos (8).

En tabla No.3 se muestra las necesidades de los aminoácidos esenciales para el hombre.

Tabla No.3 Aminoácidos indispensables para el hombre (5).

Aminoácidos esenciales	Cantidad necesaria (g/ día) (29)	Ingesta mínima (g/día) Hombre (5)	Ingesta mínima (g/día) Mujer(5)
L-Fenilalanina	2.2	1.10	0.22
L-Metionina	2.2	1.10	0.29
L-Leucina	2.2	1.10	0.62
L-Valina	1.6	0.80	0.65
L-Lisina	1.6	0.80	0.50
L-Isoleucina	1.4	0.70	0.45
L-Treonina	1.0	0.50	0.31
L-Triptofano	0.5	0.25	0.16

Organismos gubernamentales que se han preocupado por la calidad de proteína en productos alimenticios manufacturados, han instituido la implantación y la regulación de la etiqueta del valor nutritivo del alimento, lo cual es tan solo una parte de un gran movimiento en la sociedad americana dirigida al aseguramiento de la calidad para el consumidor (21).

De lo mencionado con antelación, se observa que los métodos químicos no nos dicen con exactitud la asimilación y calidad de un alimento por lo que es necesario medir el valor biológico de la proteína o mezcla de ellas en un alimento procesado para uso rutinario (23,25), solo mediante pruebas con animales tales como ratas o bien en el mismo hombre con una dieta en particular o alimento, se puede obtener una estimación verdadera de la calidad biológica de la proteína. Generalmente, los valores de proteína para humanos han sido evaluados principalmente en pruebas con ratas, con menor frecuencia se utilizan pollo, cobayos, ratones, cerdos y ovinos. Afortunadamente, si se compara el porcentaje

de aminoácidos indispensables requeridos para el hombre y particularmente en niños con los requeridos para el crecimiento de ratas estos son muy similares.

Tabla No.4 Aminoácidos indispensables para rata y hombre (3,30).

Aminoácido esencial	Rata (mg/kg. De peso corporal)	Niños (0-6meses) mg/día/kg.	Niños(10-12 meses)mg/día/kg.	Adultos mg/día/kg.
Histidina	23.5	28	0	0
Isoleucina	90.4	70	30	10
Leucina	53.1	161	45	14
Lisina	32.2	103	60	12
Metionina	67.2	58	27	13
Fenilalanina	54.5	125	27	14
Treonina	53.1	87	35	7
Triptofano	15.6	17	4	3.5
Valina	67.1	93	33	10

Existen numerosas técnicas que son utilizadas para estimar la calidad proteínica. A continuación se considerarán las más importantes.

2.4.1. Pruebas para evaluar la calidad de una proteína

La evaluación nutricia de los alimentos se basa en la evaluación biológica o química principalmente de su proteína.

2.4.1.1 Pruebas químicas

Algunos métodos de Evaluación de la proteína son:

a) **Análisis bromatológico.** Por esta metodología se analiza el alimento en todos sus componentes mayoritarios, y por supuesto su contenido de proteína. Se presupone que a

mayor contenido de proteína es mejor el alimento, esto no es siempre verdad ya que no todos las proteínas contienen los aminoácidos esenciales para el hombre en las cantidades requeridas.

b) **Score o cuenta química.** Este método se basa en el análisis de aminoácidos que contiene la proteína y su comparación con el patrón de aminoácidos que nos dan organismos oficiales como la FAO; los cuales son los patrones de aminoácidos ideales de una proteína.

2.4.1.2 Métodos biológicos

- **PER Relación de eficiencia proteínica** (REP en sus siglas en español). Este método evalúa la proteína del alimento que es capaz de producir crecimiento e involucra animales de laboratorio.

El ensayo de PER es una de las pruebas biológicas más utilizadas, es uno de los mejores bioensayos para medir calidad de proteína. La relación de eficiencia proteínica fue usada por primera vez en 1917 por Osborne y Mendel. Este ensayo, se realiza con ratas sus resultados son extrapolado a humanos en período de crecimiento, debido a la similitud en el sistema digestivo de ambos.

Para realizar un ensayo biológico se requiere considerar el contenido de proteína (alto o bajo), así como la palatabilidad que presente la dieta ya que es un parámetro que influye en la ingesta del alimento y finalmente el tiempo que requiere para realizar el ensayo,

este último es el principal factor que hace este tipo de pruebas no factibles para análisis de rutina.

La relación de la eficiencia proteínica es una medida del peso ganado de un animal en crecimiento, dividido entre la ingestión de la proteína.

$$\text{REP} = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

Es el método más simple para la evaluación de la calidad de la proteína, ya que requiere únicamente una medida adecuada de ingestión de la dieta y el peso ganado. Sin embargo, para que el estudio tenga validez, se requiere que se cumplan ciertas condiciones: las calorías ingeridas deben ser adecuadas y la proteína debe ser suministrada en una cantidad conveniente pero no en un nivel excesivo ya que con altos niveles de proteína en la dieta, el peso ganado no se incrementa proporcionalmente con la proteína ingerida.

La relación de eficiencia proteica es el método más adecuado de los métodos biológicos, aunque es necesario cuidar ciertos parámetros que influyen en los resultados como son:

1. Raza, edad y sexo de los animales utilizados
2. Peso de los animales (35-45 g para raza Wistar)
3. Nivel de proteína de la dieta, esta deberá estar entre 9.5 y 10.5.
4. Energía de 380 -420 kilocaloría/100 g de dieta.
5. Habilidad o destreza del operador

6. Rack adecuado de preferencia de acero inoxidable

7. Temperatura de cuarto (iluminación/humedad relativa)

Todo esto se debe a que la prueba como ya se menciono mide solo la proteína que promueve el crecimiento por lo tanto es necesario cuidar que la calidad de la proteína asignada sea la necesaria para promover ese crecimiento y no un exceso que se vaya a deposito de grasa y esto eleve el peso del animal pero no por crecimiento().

- **NPR Retención Neta proteica.** Es una prueba biológica nutricional, donde se hace uso de una dieta libre de nitrógeno. Básicamente el método involucra alimentar a un lote de animales con una dieta conteniendo una proteína de referencia que generalmente es caseína; además se introduce un grupo control con una dieta libre de nitrógeno; y se corre al mismo tiempo las dietas de prueba, que deben ser isoproteínicas e isocalóricas con respecto a la dieta de referencia.

Con este tipo de método se menciona que se sobreponen las variaciones en alimento ingerido encontrado en él PER, además de poder trabajar con dietas que produzcan un pobre crecimiento. Se ha observado que el valor de NPR correlaciona estrechamente con la determinación de NPU (Net protein Utilization), incluso Bender y Doell (33) encontraron un factor experimental de 16, para correlacionar ambas determinaciones en una amplia serie de alimentos(36).

Con esta determinación, en donde hay un control con pérdida de peso, la cual se suma al incremento o decremento de la dieta de prueba, se asume que la proteína requerida para

prevenir la pérdida de peso de las ratas alimentadas con la dieta libre de nitrógeno, es equivalente a las necesidades proteínicas para el mantenimiento. Además cabe referirse que dicho estudio requiere de un menor tiempo (10 días).

Para el cálculo del NPR se utiliza el incremento de peso en el animal durante 10 días de ensayo del PER.

El NPR se calcula así:

$$\text{NPR} = \frac{(\text{Incremento de peso proteína de prueba}) - (\text{Incremento de peso dieta libre de N})}{\text{proteína ingerida(g)}}$$

Los datos obtenidos se promedian y se saca su error estándar. La Relación Proteínica Neta Relativa (RNPR) es el NPR del material a prueba expresado en relación con el NPR de la referencia estándar, caseína. La razón puede también ser expresada como porcentaje.

$$\text{RNPR} = \frac{\text{NPR de la proteína en prueba}}{\text{NPR de la proteína de referencia (caseína)}}$$

Asumiéndose que el 16% del peso ganado por los animales es nitrógeno, al multiplicar el valor de NPR por 0.16, se obtiene una estimación de la proteína ingerida la cual es retenida. A este valor se denomina como Eficiencia de retención proteínica (PRE).

Solo en una prueba ideal se puede tener una retención completa, el valor máximo es 1 y la escala de valores es entre 0 y 1.

$$\text{PRE} = \text{NPR} * 0.16$$

- **Balance de Nitrógeno.** Es el método más comúnmente aceptado para la evaluación de los requerimientos de nitrógeno y de los aminoácidos en humanos. La interpretación de los datos de balance de nitrógeno está basado en la premisa de que, en el adulto el equilibrio es alcanzado cuando la suplementación de aminoácidos indispensables y nitrógeno total son adecuados para reemplazar las pérdidas endógenas que ocurren a través del riñón, excreción intestinal, sudor, la descamación de células epiteliales y para la síntesis de tejido.

El balance de nitrógeno representa la interacción de varios factores. Los más importantes son los estados fisiológicos, reservas de proteína en el cuerpo, valor calórico de la dieta y los aminoácidos indispensables y dispensables provistos en la dieta.

El cálculo del balance de nitrógeno se realiza como sigue:

$$\text{Balance nitrógeno} = \text{Nitrógeno ingerido} - (\text{Nitrógeno heces} + \text{Nitrógeno orina})$$

El valor se expresa en g/día. Para calcular este método se requiere la cantidad del alimento ingerido, recolectar las heces y el volumen de orina de los humanos en estudio; el contenido de nitrógeno es determinado por el método de Kjeldahl.

- **Digestibilidad.** Es un ensayo rápido fundamentado en la correlación de aminoácidos en los alimentos, tomando como base los requerimientos para el hombre. En esta técnica se utiliza un sistema de enzimas proteolíticas *in vitro*, el más común utiliza tripsina, quimiotripsina y peptidasa intestinal principalmente. Otras enzimas que se han usado son pepsina pancreática y papaina-tripsina (24,25); el método de

digestibilidad tiene buena correlación con los métodos *in vivo*, además de que el tiempo requerido para el desarrollo de la digestibilidad y lo referente a su costo es menor en comparación con otros.

El PER, NPR y PRE son métodos representativos del poder de los ensayos biológicos los cuales involucran la medida de ingesta de proteína y peso corporal.

A pesar de ciertas desventajas ellos son relativamente simples de llevarse a cabo y requiere un mínimo de equipo especial. Los otros métodos están basados en la retención de nitrógeno u otro la medición de ingesta de proteína y el nitrógeno excretado en las heces y orina o bien la medida de nitrógeno en tejido (8,21,22,24).

El tipo de dieta y la composición de nutrimentos puede variar de acuerdo a los objetivos experimentales. En la dieta de más uso se incluye un ligero exceso en la concentración de nutrientes con respecto a los requerimientos esto como margen de seguridad (31). Una de las condiciones para realizar los bioensayos es que los animales se alimenten con dietas adecuadas en términos de energía, vitaminas y minerales, en la cual solo la fuente de proteína es el material bajo prueba (8,23).

2.5 Suplementación.

La combinación de alimentos cereal/leguminosa son comunes en la historia humana. Destacan las parejas formadas por la soya y el arroz, el garbanzo o la lenteja con el trigo, el frijol común y el maíz, pero hay muchas más y como regla general cualquier semilla de

leguminosa forma una excelente pareja con cualquier semilla de cereal. La excelencia de las parejas cereal/leguminosa radica en que se complementan desde las perspectivas tanto sensorial como nutricia; en lo referente a sus proteínas que, juntas, son mejor aprovechadas que cada una de ellas por sí sola. Esto se debe a que las deficiencias de aminoácidos son distintas en las semillas de los cereales que en el de las leguminosas, por ejemplo los cereales son deficientes en lisina y tiene metionina un aminoácido indispensable y las leguminosas contienen lisina y es escasa la cantidad de metionina, de manera que al combinarse el cereal cubre las deficiencias de aminoácidos azufrados de la leguminosa y está cubre la deficiencia de lisina del cereal dando como resultado un alimento de mejor calidad.

Una proteína de alto valor biológico es aquella que proporciona todos los aminoácidos indispensables necesarias para la construcción de tejidos, según el patrón de la FAO (24). Por lo anterior se recurre a la suplementación; es decir, mezclar 2 o más proteínas con deficiencia de algunos aminoácidos indispensables pero que al combinarlas aumenta su valor biológico. Para que sea efectiva la suplementación proteínica deberán encontrarse las proteínas que se complementen en la misma comida. De hecho esto se hace de una manera natural en una dieta normal.

Por lo antes mencionado el frijol es en Latinoamérica, después de los cereales, el recurso más importante de proteínas, calorías y otros nutrimentos (1,3,6,30).

2.6 Definición de los productos a desarrollar

La definición de los productos es para conocer las especificaciones tales como características físicas y químicas que permita llevar acabo el proceso de formulación de cada producto deseado y proseguir las etapas subsiguientes del trabajo experimental.

2.6.1. Galletas dulces.

Las galletas son el producto elaborado con harina de trigo, avena, centeno, harinas integrales, azúcares, agentes leudantes, sal yodatada, grasa vegetal y/o aceites comestibles; adicionados o no de otros ingredientes y aditivos permitidos los que se someterá a un proceso de amasado, moldeado y horneado.

Los ingredientes opcionales son leche descremada en polvo, queso, suero de leche, caseinato de sodio, mantequilla o grasa butírica, huevo fresco congelado o en polvo, frutas en sus distintas formas, mermeladas, jaleas, gomas, agar-agar, pectinas o albúminas, chocolate, y coco rayado.

Respecto a los aditivos se utilizan lecitina, saboreadores, colorantes, emulsificantes, antioxidantes y mejoradores autorizados por las normas nacionales(10).

2.6.2. Pastas alimenticias.

La pasta alimenticia se define como aquel producto obtenido de la desecación de las figuras, resultado del amasado de harina y/o sémola de trigos duros con agua fría o

caliente, con o sin adición de otros ingredientes opcionales como puede ser: huevo entero, albúmina de huevo o clara de huevo congelada, harina de soya, suero en polvo, vegetales, vitaminas y minerales.

La clasificación de estas se basa en tamaño y forma, largas o cortas, huecas o compactas, en combinación se da la identificación de las diferentes pastas. El tipo de pasta a desarrollar será larga y compacta (ya que se trata de tallarín). Los controles que se analizan en este producto son el aspecto, color, olor y sabor, tiempo de cocción y tiempo de desintegración básicamente (11).

La cocción se puede definir como el tratamiento térmico de los alimentos con el fin de mejorar sabor, digestibilidad y seguridad.

Efectos generales de la cocción. La transferencia del calor y de la masa produce muchos de los cambios de color, sabor, volumen, textura y digestibilidad que tienen lugar durante la cocción. El arte de cocinar consiste en promover los cambios deseables al mismo tiempo que se reducen los indeseables. Por ejemplo, al hornear la cantidad de calor absorbido por la superficie determina el grado de tostado que se produce en parte por la caramelización del azúcar y en parte por el tostado no enzimático debido a la interacción del azúcar y la lisina. Si el calentamiento es muy bajo, el producto tendrá un aspecto crudo y blanuzco; si es demasiado elevado, el color puede ser muy oscuro (incluso negro) y habrá considerable destrucción de la lisina debido al excesivo obscurecimiento no enzimático.

Además de los cambios mencionados, hay también cambios en el valor nutritivo durante la cocción. Algunos efectos específicos pueden ser benéficos; por ejemplo, la destrucción por calor de las sustancias que inhiben la actividad enzimática de la tripsina en muchas legumbres crudas. Otros efectos específicos probablemente sean perjudiciales, como es el caso del tostado no enzimático antes mencionado.

Cocción por ebullición.

La ebullición es un método común para cocinar por calor húmedo; utiliza el hecho de que debido a que el agua tiene un elevado calor específico constituye un eficiente depósito de calor, y por tanto es un medio conveniente para transferir el calor a los alimentos. Su amplia disponibilidad es otro factor importante. El agua presenta la desventaja como medio de transferencia de calor debido a que es un buen disolvente, los alimentos cocidos en ella pueden perder una considerable proporción de materia soluble. Las hortalizas por ejemplo se cocinan corrientemente por ebullición, y esto da por resultado una pérdida inevitable de algunos elementos minerales y de vitaminas; las pérdidas de éstas es la más importante desde el punto de vista nutricional.

El tiempo durante el cual se hierven los alimentos afectan también la pérdida de nutrientes (26,27).

En la tabla No.5 se resumen los efectos y pérdidas por cocción de algunos alimentos.

Tabla No.5 Resumen de los efectos y pérdidas por cocción de los alimentos.

Alimentos	Procesos implicados	Pérdida causada por	Ejemplos de nutrientes perdidos
Legumbres	Lavado, remojado en agua y cocción	Disolución	Pérdida de vitaminas hidrosolubles (vit. C, tiamina ácido fólico, piridoxina).
Legumbres verdes y secas	Calentamiento prolongado o alta temperatura como de hornear y asar	Oxidación o desdoblamiento de nutrientes	Vitamina C, riboflavina, ácidos grasos y aminoácidos indispensables
Legumbres verdes y secas	Eliminación de agua de cocción	Disolución	Pérdida de vitaminas hidrosolubles (Vit. C, tiamina y riboflavina) y zinc

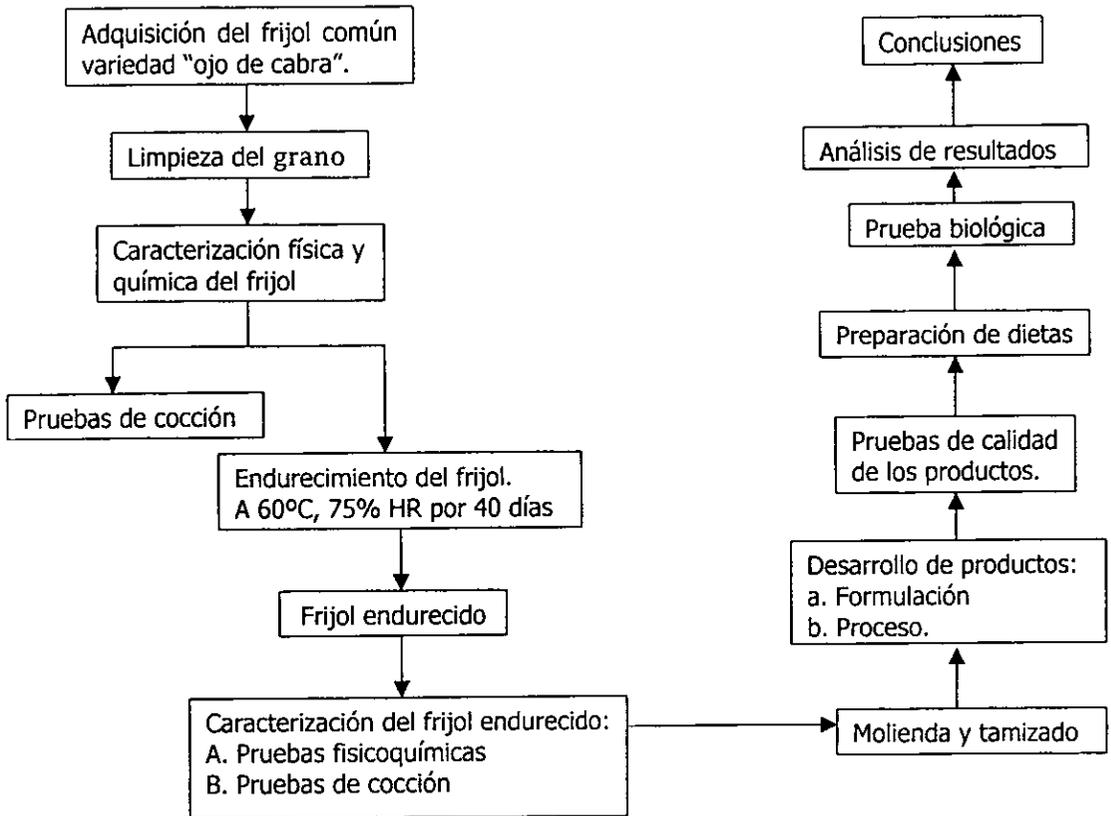
Finalmente en los últimos años se han realizado estudios referentes al contenido de factores antinutricionales (como son inhibidores de tripsina y ácido fitico), calidad nutritiva, efectos del procesamiento, tiempos de cocción, suplementación, efectos de almacenamiento del frijol en diferentes variedades así como lo relacionado con el fenómeno de endurecimiento (4,6,7,12,13,14,17,18,20).

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

De acuerdo al estudio realizado por Moreno (34), en el cual se evaluaron siete variedades distintas de frijol y obteniéndose como resultados las condiciones del endurecimiento (60°C, 75 % humedad relativa por 40 días) y cual variedad de frijol fue la mas afectada bajo dichas condiciones; el frijol "ojo de cabra" fue el que en el menor tiempo presentó el endurecimiento acelerado. Por ello se utilizó esta variedad para realizar el presente estudio.

En la figura No. 3 se muestra el diseño experimental que se siguió en este estudio.

Figura No.4 Diseño experimental.



3.1 Muestras

La variedad de frijol (*Phaseolus vulgaris*) con la que se trabajó fue "ojo de cabra", por lo que se mencionó anteriormente de la cual se adquirieron 12 Kg, en el mercado de la Merced de la ciudad de México.

Se procedió a la limpieza del grano con el objetivo de eliminar otros granos presentes, materia extraña, granos quebrados y granos dañados, se homogeneizó el lote, tomándose una muestra de un kilogramo para la caracterización física y química. Estas se realizaron siguiendo los métodos reportados en la AOAC y AACC (30,31) determinando densidad relativa, peso del grano, peso hectolítrico, materia extraña, granos quebrados, otros granos y granos dañados. A la muestra de frijol crudo, se le determinó: humedad, proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda y cenizas. Para lo cual se siguieron los métodos reportados en el AOAC (30).

Al frijol también se le realizó la prueba de cocción para asegurar que realmente era un frijol suave, esta prueba se realizó por el método de Evaluación sensorial (28) y consiste en:

Preparación de la muestra: lavar 25 granos de frijol y colocarlos en 75 mL de agua. Dejarlos en remojo por 18 horas a temperatura ambiente (o bien omitiendo el remojo), al final del periodo de remojo separar los granos del agua de remojo y se procede a la cocción.

Procedimiento:

1. Poner 300 mL de agua en un vaso de precipitados de 600 mL, que se coloca en una parrilla (Thermolyne) y se pone a calentar hasta ebullición. Se agrega los frijoles y se deja hervir.

2. Cada determinado tiempo, en nuestro caso se realizó cada 5 min. Se sacan varios granos del agua hirviendo y con ellos se realiza la prueba sensorial que determina el tiempo de cocción.

3. La prueba sensorial se puede efectuar en dos formas:

a) Oprimiendo el grano de frijol entre los dedos índice y pulgar, y

b) mordiendo un grano con los dientes incisivos y oprimiéndolo entre la lengua y el paladar.

4. Conforme la ebullición continua, la textura del cotiledón cambia de una sensación áspera a una sensación granular suave, si los frijoles continúan en ebullición más del tiempo óptimo de cocción, la textura del grano continua cambiando. Cuando los granos están sobrecocidos la sensación granular suave cambia a una textura pastosa, probablemente debido al continuo hinchamiento del almidón y ruptura de las paredes celulares.

5. Reportar como tiempo de cocción cuando la textura es granular suave.

Cuando los frijoles tienen un tiempo de cocción mayor a 150 minutos (2.5 horas) se considera un frijol duro.

Otra manera de determinar el tiempo de cocción del frijol es mediante el Cocinador Mattson modificado (28) el cual consiste en determinar el tiempo requerido para

que el 50% de una muestra de frijol bajo condiciones de cocción sea atravesado por una aguja.

Para llevarse a cabo se requiere de una estufa, del Cocinador Mattson modificado, 25 pines \pm 48 g de peso, cada uno, con un diámetro de 5 mm, y agujas al extremo inferior de 2 mm.

Procedimiento

- ❖ 25 granos de frijol son colocados en el cocinador Mattson modificado.
- ❖ Colocar el cocinador con frijoles en un recipiente con agua hirviendo, el nivel de agua debe quedar arriba de los frijoles una pulgada como mínimo.
- ❖ Cuando un grano está cocido este es penetrado por la aguja del pin, la parte superior del pin desciende 3-4 cm.
- ❖ Efectuar un conteo del número de pines que han descendido cada 5 minutos.

Cálculos

Con los datos construir una gráfica donde el % de los granos cocidos esté como función del tiempo. El tiempo de cocción está definido cuando se alcanza el 50 % de los granos cocidos.

Valores de referencia

Frijoles recién cosechados	=menos de 100 minutos
Frijoles con seis meses de almacenamiento bajo condiciones agrícolas	=más de 150 minutos

Se dejaron 3 Kg del grano para elaborar la dieta de frijol sin endurecer. Esta cantidad de frijol se coció, se secó en la estufa y se molió (molino CeCoCo) para obtener harina del frijol suave o sin endurecer y así preparar la dieta, que es uno de los controles.

3.2 Proceso de endurecimiento

Para endurecer el frijol, se sometió al proceso de endurecimiento acelerado, previamente encontrado por Moreno (34,35) y que consiste en mantener el frijol a una temperatura de 60°C (esto se efectuó en una estufa), con una humedad relativa de 75%, la cual se logro mediante humedecimiento de toallas de papel estraza diariamente durante 40 días.

Al terminó de la etapa de endurecimiento, se le realizó al frijol el análisis bromatológico pero además se realizaron otras pruebas como fueron: % de absorción de agua, tiempo de cocción con y sin adición de sales (NaHCO_3 y Ca(OH)_2) al 0.3% cada una por separado de acuerdo al método mencionado.

El procedimiento para determinar el % de Absorción de agua (28) fue el siguiente:

1. Pesar por duplicado, muestras de 25 granos (W_1)
2. Cada muestra por separado, colocarla en vasos de precipitado con 75 mL de agua destilada a temperatura ambiente.

A intervalos de una hora, con un máximo de 8 horas, retirar la muestra de 25 granos del agua de remojo, secarlos con una toalla de papel y pesarlos inmediatamente (W_2),

desechar estos granos. Para llevar acabo la prueba se pusieron 16 muestras para realizar el pesado cada hora durante ocho ocasiones por duplicado.

Él % de absorción de agua se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{ Absorción de agua} = (W_2 - W_1) * 100 / W_1$$

Con el par de datos de cada hora se sacó el promedio y es gráfico él % de absorción de agua en función del tiempo (gráfica No.1).

Un frijol con 8 horas de remojo de acuerdo a la metodología antes mencionada que presente un porcentaje de absorción de agua menor de 80 se considera un frijol duro.

Molienda y tamizado

El frijol endurecido, se secó y molió. Con una parte de esta harina se manufacturarán los productos (galletas y pasta de tallarín) y con la otra parte se elabora la dieta para las ratas para evaluar su calidad nutricia.

La molienda del frijol crudo endurecido se realizó en un molino de tornillo para después tamizarlo por malla número 50 mesh, y así obtener la harina de frijol crudo endurecido con la que iba a elaborar los productos mencionados anteriormente.

3.3 Desarrollo de productos elaborados con harina de frijol endurecido.

3.3.1 Elaboración de pastas alimenticias tipo tallarín.

3.3.1.1 Metodología

Para elaborar la pasta tipo tallarín se siguió la metodología expuesta en la figura No. 4, se realizaron varios lotes con diferentes cantidades de harina de frijol (15, 20, 25 y 30 %), hasta obtener la mejor formulación así como la adición de aditivos tales como gluten (4g/100g de producto), monoesterato de glicerilo (0.5%) y huevo entero (0.5%), finalmente, con base en las pruebas de cocción se seleccionó la formulación de la pasta con el mayor porcentaje de harina de frijol endurecido y la que presentó características similares a las que presenta la pasta comercial.

Posteriormente, se determinaron las pruebas de calidad de la pasta para después elaborar la pasta necesaria en la cantidad requerida para cocerla, secarla, molerla, y con la harina obtenida elaborar la dieta para determinar la calidad nutricia mediante el PER.

3.3.1.2 Ingredientes

Harina de frijol crudo endurecido

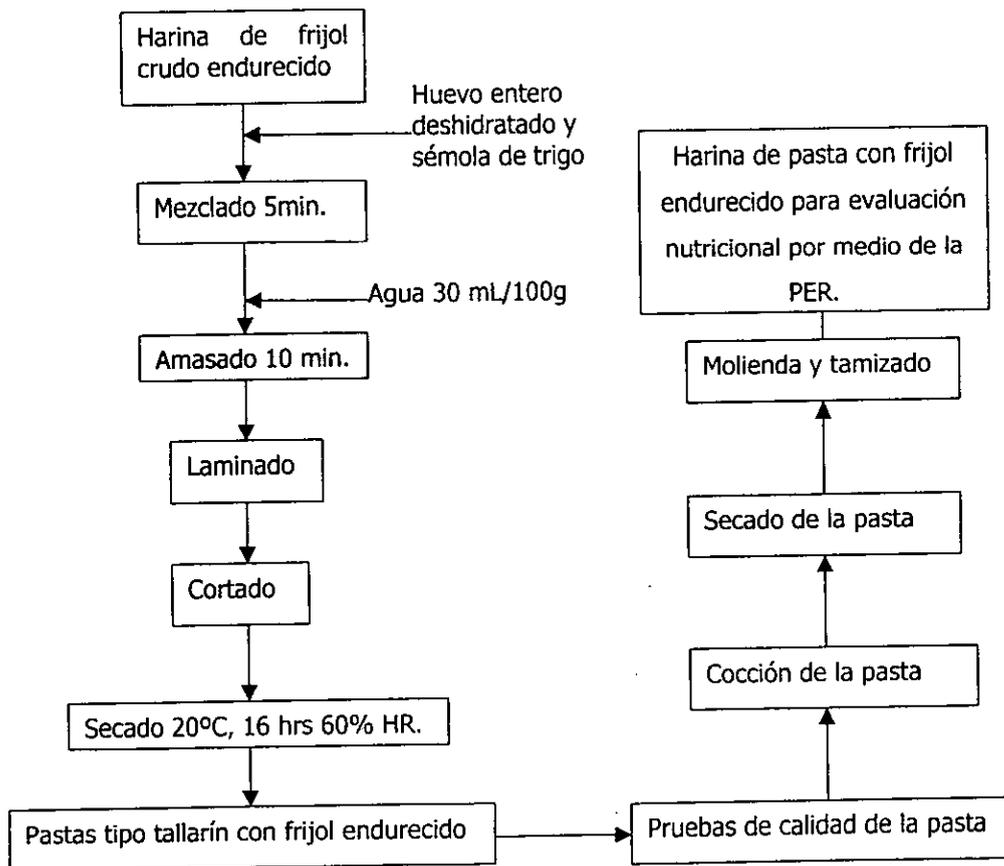
Huevo entero deshidratado

Sémola de trigo

Monoesterato de glicerilo

Gluten de trigo

Figura No.5 Proceso de elaboración de pastas tipo tallarín con frijol endurecido (4).



3.3.2 Elaboración de galletas dulces tipo "Marías".

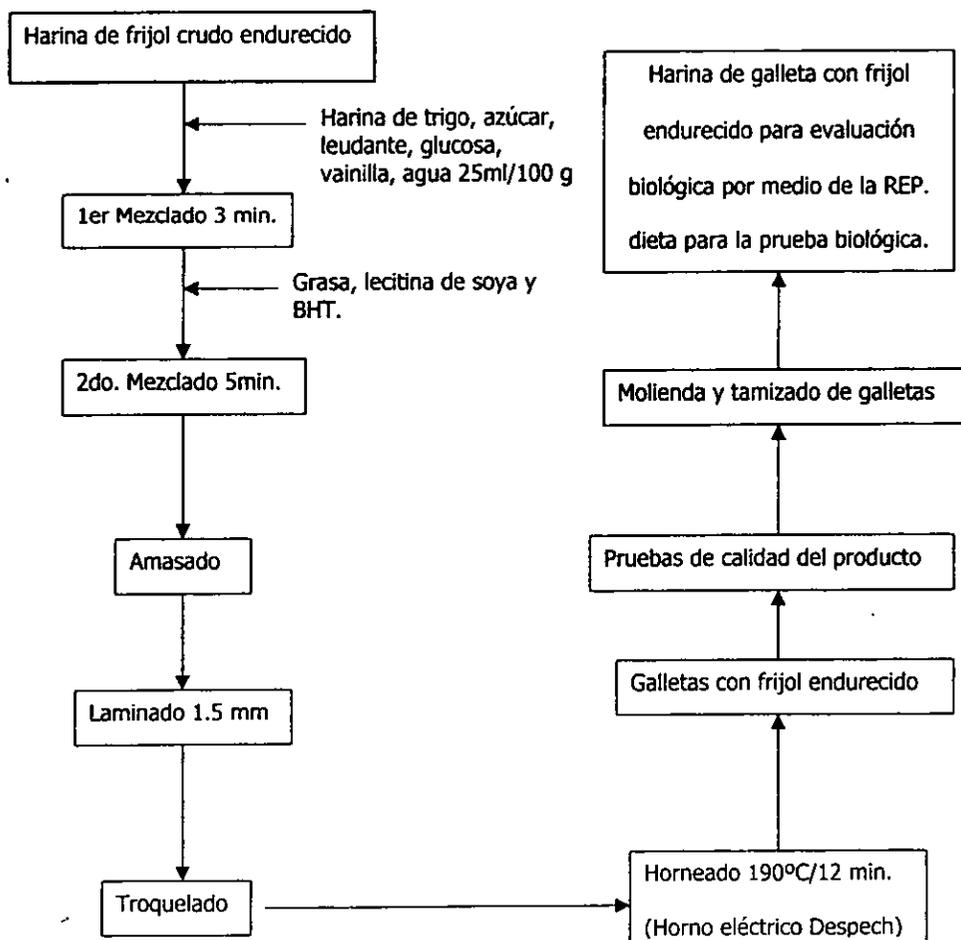
3.3.2.1 Metodología

Lotes de 100 g de galletas, se elaboraron siguiendo el diagrama de la figura No. 5, mencionado anteriormente por Ramírez(4). El desarrollo de este producto consistió en encontrar la formulación con la cantidad aceptable de harina de frijol endurecido 43.06% del total de harina (56.94% de harina de trigo) así como el azúcar para obtener el producto con las mejores características físicas y sensoriales.

3.3.2.2. Ingredientes

Harina de frijol crudo endurecido (43.06%)	Grasa vegetal comestible
Harina de trigo (56.94%)	Lecitina de soya
Azúcar	Glucosa
NaHCO ₃	Vainilla (saborizante)
Antioxidante (BHT)	

Figura No.6 Proceso de elaboración de galletas con frijol endurecido (4).



3.4 Pruebas de calidad de los productos.

Las pruebas de calidad practicadas a los productos elaborados con la harina de frijol endurecido fueron:

Para la pasta: tiempo de cocción, tiempo de desintegración, % absorción de agua y % de sedimentación.

Para las galletas fueron: % de humedad este parámetro es indicativo del grado y calidad de horneado y el pH es para determinar la producción de gas (HCO_3^-) ya que si el valor es alcalino la producción del anhídrido carbónico disminuye afectando el volumen del producto final(7, 8).

3.5 Preparación de dietas para la evaluación biológica por medio de la REP.

Las dietas se prepararon con base en los requerimientos necesarios para obtener unas dietas isoproteínicas e isocalóricas, según la National Research Council (29) (tabla No.6) con los nutrimentos y las cantidades apropiadas de éstos para un buen desarrollo y funcionamiento del organismo animal (30,31), en este caso ratas wistar.

Tabla No.6 Composición de la dieta purificada de caseína (dieta control) (29).

Ingrediente	Composición (%)
Caseína	10
Sacarosa	10
Mezcla de vitaminas *	1
Mezcla de minerales**	4
Aceite de maíz	5
Fibra cruda (Celulosa)***	4
Almidón de maíz ****	A completar el 100%

* Mezcla de vitaminas según AIN 76-A

** Mezcla de minerales Roger and Harper

*** Celulosa

**** Almidón de maíz o tapioca.

A las harinas obtenidas, tanto de los productos comerciales como las de su contraparte con harina de frijol endurecido, se les practicó un análisis bromatológico para con esos valores poder preparar las dietas para las ratas y que éstas fuesen isoproteicas e isocalóricas.

Metodología

Para poder elaborar las dietas con los requerimientos de la NRC, después de elaborados los productos se les realizó su análisis bromatológico y a un producto comercial de cada producto realizado, estos datos en los cuales nos basamos para elaborar se presentan en la tabla No.17 que es la caracterización de las dietas de galletas comerciales y galletas con frijol endurecido y en la tabla No.18 (capítulo de resultados) se presenta la composición de cada uno de las dietas, su % de proteína y sus calorías por 100g de dieta, como puede observarse en el caso de las galletas comerciales tipo "Marías" y las galletas con frijol endurecido, el % de proteína en las harinas era de 8.79 y 8.49 respectivamente,

por lo que no se podía preparar la dieta al 10 % de proteína que nos indica la NRC(21,29) ya que el máximo porcentaje que se podría obtener con esas harinas era de un 7%, por tal motivo se prepararon ambas dietas al 7% y se preparó una dieta de caseína con ese % de proteína como control para estas dietas.

Tabla No.7 Dietas elaboradas para la evaluación de la calidad nutricional de productos en estudio y su contenido proteico.

Dieta	Siglas de identificación	% proteína
Dieta purificada de caseína	DC ₁	10
Frijol sin endurecer	FSE	10
Frijol endurecido	FE	10
Pasta comercial	PC	10
Pasta con frijol endurecido	PFE	10
Dieta purificada de caseína	DC ₂	7
Galleta comercial	GC	7
Galleta con frijol endurecido	GFE	7

Para esta prueba (PER), se trabajó con ratas Wistar de la colonia del bioterio de la Facultad de Química, machos recién destetados cuyo peso oscilara entre 45-55g, de 21-23 días de edad. Las condiciones del cuarto donde se realizó la prueba fueron: humedad relativa promedio de 60.2%, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, rango de temperatura entre 10-20°C.

Las ratas se pesaron y se distribuyeron en lotes de ocho ratas según el método de la culebra japonesa (23). Las ratas se colocaron en un "Rack" cada animal por separado, se les dio agua y alimento "ad libitum" y se registro su consumo cada tercer día, los animales se pesaron cada 7 días, hasta cumplir 28 días que dura el experimento. Al terminó del mismo se calcula él PER de cada animal y se saca un promedio para cada dieta.

Para obtener el valor de PER se realiza el siguiente cálculo:

$$\text{PER} = \frac{\text{Incremento de peso del animal (gramos)}}{\text{Alimento ingerido (g)} * F}$$

Donde:

F = es el factor que corresponde contenido de proteína en la dieta, expresado en fracción centésima.

Se calcula él PER promedio de cada lote en estudio como se muestra a continuación:

$$\overline{\text{PER}} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{PER}_i}{n}$$

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el tabla No. 8, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización física del frijol fresco. Observamos que existe un alto porcentaje de granos de otra variedad en el lote de frijol fresco; esto debido a que fue adquirido comercialmente y por lo tanto no es de una sola variedad, sino que es una mezcla, que contiene un alto porcentaje de granos de otras variedades.

Tabla No.8.Caracterización física del frijol.

Determinación	Frijol ojo de cabra fresco
Peso hectolítrico (Kg/100lt)	80.6
Peso del grano(1000 granos)	326.7
Densidad (g/mL)	1.78
% Grano limpio	74.19
% Granos quebrados	2.55
% Otros granos	22.23
% Impurezas	1.03

La composición química de los granos se presenta en el tabla No.9. Apreciándose diferencias considerables entre el frijol sin endurecer y el endurecido. Las diferencias más apreciables son el aumento en los parámetros del % cenizas, fibra y grasa cruda en el

frijol endurecido, esto probablemente se deba a los cambios bioquímicos y estructurales que sufrieron dichos componentes durante el proceso de endurecimiento.

Tabla No 9. Caracterización bromatológica del frijol fresco y endurecido.

Determinación	Frijol fresco	Frijol endurecido
% Cenizas	3.53±0.033	4.88±0.025
% Fibra cruda	4.99±0.204	6.28±0.010
% Grasa cruda	2.63±0.148	2.18±0.058
% Proteína cruda	20.3±0.202	19.86±0.115
Carbohidratos por diferencia	68.55	66.8
Total	100	100

En la tabla 10, se presentan los resultados obtenidos de tiempo de cocción para los lotes de frijol, comprobándose que efectivamente los lotes son diferentes y hubo endurecimiento en el lote que se sometió al proceso de endurecimiento acelerado, ya que el tiempo de cocción obtenido para el frijol fresco fue de 1.25 y 2.17 h con y sin remojo respectivamente aumentando en el endurecido a 3.03 y 4.00 h respectivamente, cayendo estos valores de tiempos de cocción entre los considerados como frijoles duros.

En la tabla 11, se presentan los resultados obtenidos para las determinaciones del efecto que tiene ciertas sales en el remojo para abatir el tiempo de cocción en el frijol endurecido; de los resultados obtenidos observamos que el Ca(OH)_2 y NaHCO_3 tienen el

efecto de disminuir el tiempo de cocción del frijol endurecido de 3.03 a 2.83 y 2.54 h con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y NaHCO_3 respectivamente, presentando un mejor efecto el bicarbonato de sodio que el hidróxido de calcio.

Tabla No. 10. Pruebas de cocción del frijol.

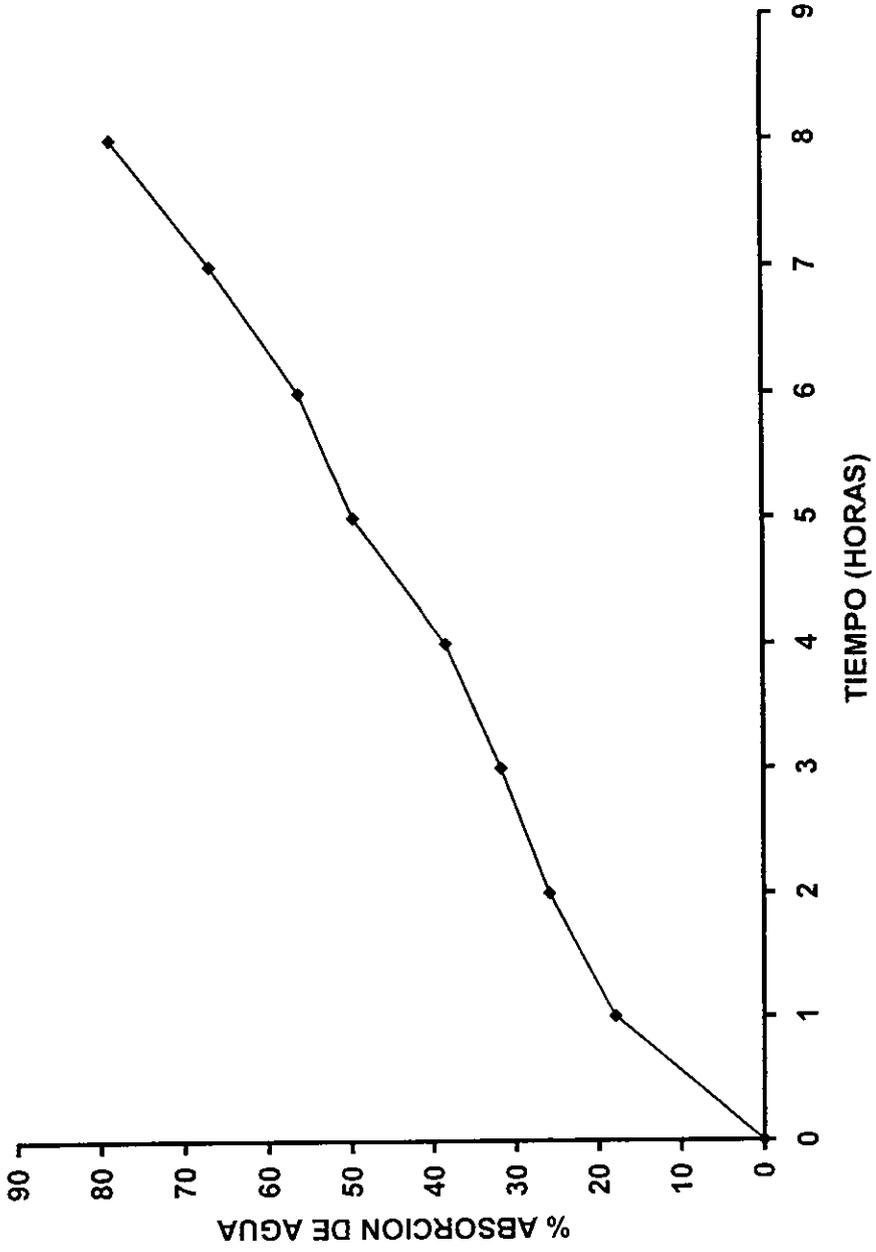
Tiempo de cocción (h)	Frijol fresco	Frijol endurecido
Con remojo	1.25 ± 0.012	3.03 ± 0.021
Sin remojo	2.17 ± 0.024	4.00 ± 0.071

Tabla No.11. Pruebas de cocción del frijol endurecido con adición de sales.

Tratamiento	Tiempo de cocción (h)
Con remojo con NaHCO_3	2.54 ± 0.024
Con remojo con $\text{Ca}(\text{OH})_2$	2.83 ± 0.012

En la gráfica No. 1 se muestra los resultados obtenidos para la determinación del % de absorción de agua del frijol endurecido, podemos observar que conforme aumenta el tiempo de remojo se incrementa el % de absorción de agua en forma casi lineal, hasta llegar a un 80% de absorción a las 8 horas, esto nos indica un comportamiento normal para este tipo de grano.

GRAFICA No. 1. % ABSORCION DE AGUA



Pasta tipo tallarín

En la tabla 12, se muestra la formulación similar que se encontró para elaborar pasta tipo tallarín con harina de frijol endurecido. Podemos ver que para elaborar la pasta se pudo mezclar en la siguiente relación en peso 85-15 sémola de trigo y harina de frijol crudo endurecido respectivamente; se le añadió huevo entero deshidratado al 0.5%. A esta pasta se le realizaron las pruebas de calidad, comparándola con una pasta comercial (marca Rex). Como puede apreciarse en la tabla 12(a) los tiempos de cocción para la pasta comercial y la pasta con harina de frijol endurecido fueron 28 y 34 min. respectivamente, este parámetro nos indican el tiempo que requiere el almidón para gelatinizarse y obtener la textura firme e ideal al mordisco sin ser pegajosa.

El porcentaje de absorción de agua de la pasta influye en la desintegración de la misma debido a que el agua absorbida es proporcional a la textura de la pasta cocinada; siendo mayor para la pasta con harina de frijol endurecido y menor para la pasta comercial (276 vs 256 %) mientras para el tiempo de desintegración se obtuvo 80 y 96 min. respectivamente, esta prueba finalmente es para saber la resistencia de la pasta a la cocción excesiva.

Tabla No. 12. Formulación de la pasta tipo tallarín con frijol endurecido

Ingredientes	Composición
Sémola de trigo	85
Harina de frijol endurecido	15
Huevo entero deshidratado	0.5

Tabla No.12a. Pruebas de calidad de las pastas tipo tallarín con frijol endurecido y comercial.

Formulación	Tiempo de cocción(min.)	Tiempo de desintegración	% Absorción de agua	% Sedimentación	Textura
Pasta con frijol endurecido.	34	80	276	1.85	Muy buena
Pasta comercial	28	96	256	1.60	Muy buena

Por lo tanto, con los datos obtenidos concluimos que la formulación para pasta tipo tallarín elaborada con 84.58% de sémola de trigo y 14.29% de harina de frijol endurecido, presenta una calidad comparable a la pasta comercial (Marca "Rex"). Por esto se puede considerar una alternativa viable para la utilización de este tipo de frijol.

Galletas tipo "Marías"

Para el caso de las galletas tipo marías elaboradas con frijol endurecido la formulación utilizada es la reportada, por Ramírez en un estudio anterior(4), al realizar esa formulación se obtuvo una galleta insípida por lo que se tuvo que modificar el contenido de azúcar para mejorar el sabor y la calidad de las galletas, con lo que la formulación modificada que obtuvo las mejores características se muestra en el tabla No.13. La relación de harina de trigo y harina de frijol endurecido fue de 56.94-43.06 respectivamente esto en relación con el total de harina en este tipo de producto.

Tabla No.13. Formulación de las galletas marías con frijol endurecido con las mejores características físicas y sensoriales.

Ingrediente	Composición (%)
Harina de trigo	32.40
Harina de frijol endurecida	24.50
Azúcar	25.59
Grasa vegetal comestible	16.53
Glucosa	0.19
NaHCO ₃	0.69
Lecitina de soya	0.049
Vainilla (saborizante)	0.049
Antioxidante (BHT)[ppm]	1.74

En el tabla No.14, se presentan los resultados de las pruebas de calidad de las galletas tipo Marías elaboradas con frijol endurecido comparando con el producto comercial (Gamesa). Como puede observarse el pH en ambas es similar mientras; que en él % humedad hay diferencia que puede deberse al mayor tostado del producto en el caso de la galleta con frijol endurecido ya que él % humedad es de 4.47 y la galleta comercial de 5.50.

Tabla No.14. Controles de calidad de las galletas tipo Marías.

	pH	% humedad
Galleta Marías "Gamesa"	7.00	5.50
Galleta con frijol endurecido	6.98	4.47

Evaluación biológica por medio del PER

Para preparar dichas dietas se realizó la caracterización química de los productos a evaluar y a continuación se presenta los valores obtenidos en las tablas No.15, 16 y 17.

Tabla No.15. Caracterización química de las harinas de frijol suave y endurecido, en base seca y cocinado 1.25 h y 3.03 h a presión atmosférica respectivamente.

Determinación	Frijol sin endurecer	Frijol endurecido
% Cenizas	3.92	3.47
% Grasa cruda	2.50	2.48
% Proteína cruda	19.57	19.30
% Fibra cruda	4.96	6.81
Carbohidratos por dif.	69.05	67.94
Energía Kcal/100 g.	386.09	380.25

Tabla No.16.Caracterización química de las pastas alimenticias (Base seca).

Determinación	Pasta comercial	Pasta con frijol endurecido
% Cenizas	1.05	1.17
% Grasa cruda	0.44	0.46
% Proteína cruda	13.08	14.09
% Fibra cruda	0.46	1.72
Carbohidratos por dif	84.97	82.54
Energía Kcal/100 g	406.01	400.37

Tabla No.17.Caracterización química de galleta comercial y con frijol endurecido (Base seca)

Determinación	Galleta comercial	Galleta con frijol endurecido
% Cenizas	2.13	2.10
% Grasa cruda	7.10	8.57
% Proteína cruda	8.79	8.49
% Fibra cruda	0.42	1.85
Carbohidratos por dif.	81.56	78.99
Energía Kcal/100 g	435.04	436.65

En la tabla No. 18 se encuentran los datos del contenido de proteína en las dietas usadas para la evaluación biológica de la calidad proteínica así como el aporte energético de las mismas. Este valor de proteína fue usado para el cálculo de la PER.

Tabla No. 18 Contenido de proteína real y calorías por 100 g de dieta elaboradas para su estudio.

Dieta	% proteína cruda	Energía Kcal/100g
Dieta purificada de caseína	10.024	395.74
Frijol sin endurecer	9.549	386.09
Frijol endurecido	9.027	380.25
Pasta con frijol endurecido	9.411	400.37
Pasta comercial	9.406	406.01
Dieta purificada de caseína	6.317	393.58
Galleta con frijol endurecido	6.782	436.65
Galleta comercial	6.687	435.04

Los valores de PER obtenidos para las dietas anteriores se muestran en la tabla No.19.

Tabla No.19. Valores de PER para las dietas experimentales.

Dieta	PER	% PER con respecto a caseína
Dieta purificada de caseína 10%(control)	2.43 ± 0.064	100.000
Frijol sin endurecer	1.35 ± 0.095	55.633
Frijol endurecido	1.06 ± 0.081	43.522
Pasta comercial	0.17 ± 0.012	6.993
Pasta con frijol endurecido	0.87 ± 0.080	35.699
Dieta purificada de caseína 7%(control)	2.36 ± 0.213	97.101
Galleta comercial	0.32 ± 0.024	13.256
Galleta con frijol endurecido	1.21 ± 0.077	49.657

De los valores obtenidos de PER para las dietas estudiadas, observamos que efectivamente el proceso de endurecimiento en el frijol causa una pérdida nutricional comparándolo con su contraparte sin endurecer (55.633 vs 43.522) lo cual esta basado a la deficiencia de aminoácidos azufrados siendo más notable en este último; además en el caso de la dieta con frijol endurecido debido a este defecto el valor de PER es significativamente diferente al de caseína, una de las causas puede ser debido al mayor tiempo que se requirió para lograr la cocción de la semilla endurecida lo que disminuyó el valor nutricional y la palatabilidad de la misma.

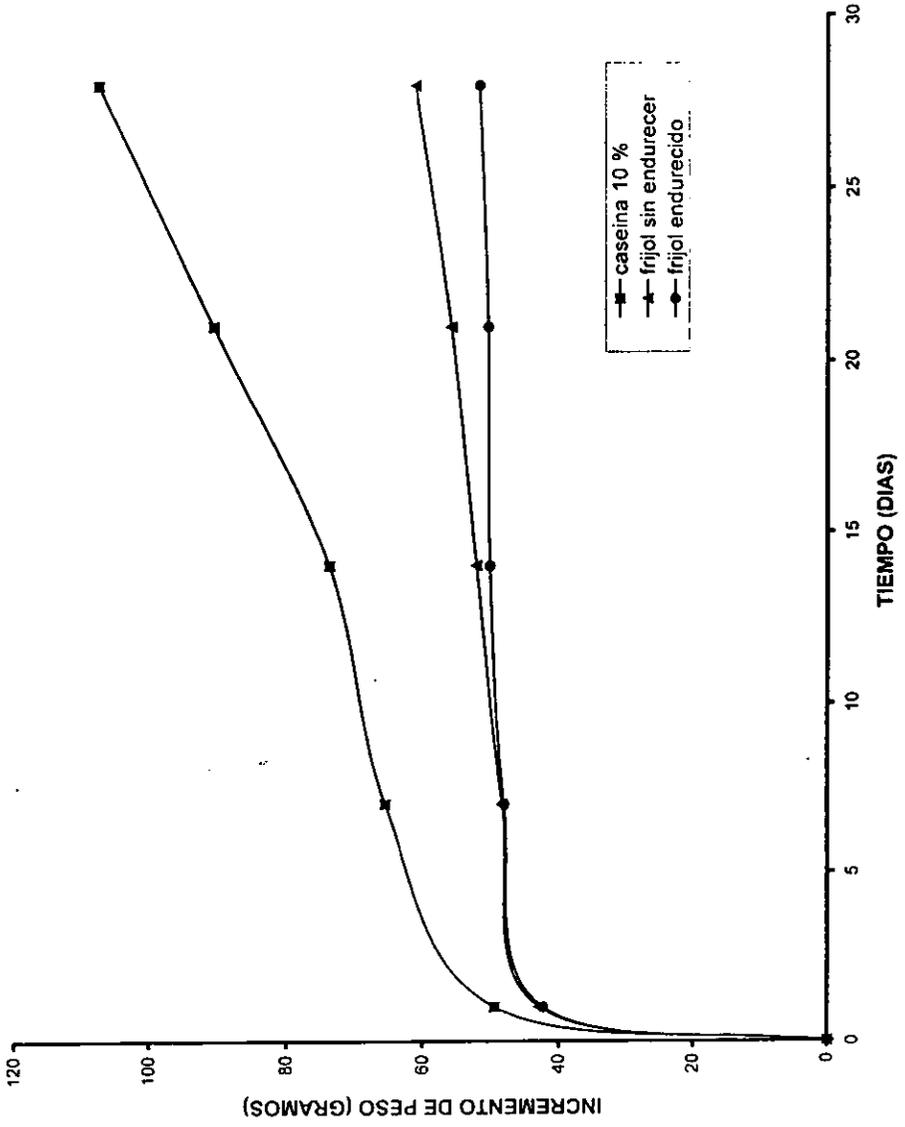
Al adicionar harina de frijol endurecido a una pasta tipo tallarín obtenemos una mejora nutricional al obtener un % de PER 6.993 en la pasta comercial y de 35.699% en la pasta con 14.29% de harina de frijol endurecido, lo mismo sucede con las galletas tipo "Marías" en donde se obtuvo un % de PER de 13.256 el cual se aumenta a 49.657 al adicionarle 43.06% de harina de frijol endurecido con respecto al total de harina que lleva el producto (56.94% de harina de trigo).

Para las pastas tipo tallarín marca comercial (Rex) y la experimental con frijol endurecido los valores de % de PER son muy diferentes por lo que podemos decir que la calidad de proteína en pasta comercial es muy baja debido a que el trigo (es un cereal que es deficiente en lisina que es un aminoácido indispensable) y en el proceso de cocción se pierden algunos de los nutrimentos hidrosolubles y con lo que respecta a la pasta adicionada con frijol endurecido su valor de % de PER es mejor, comparándose con la

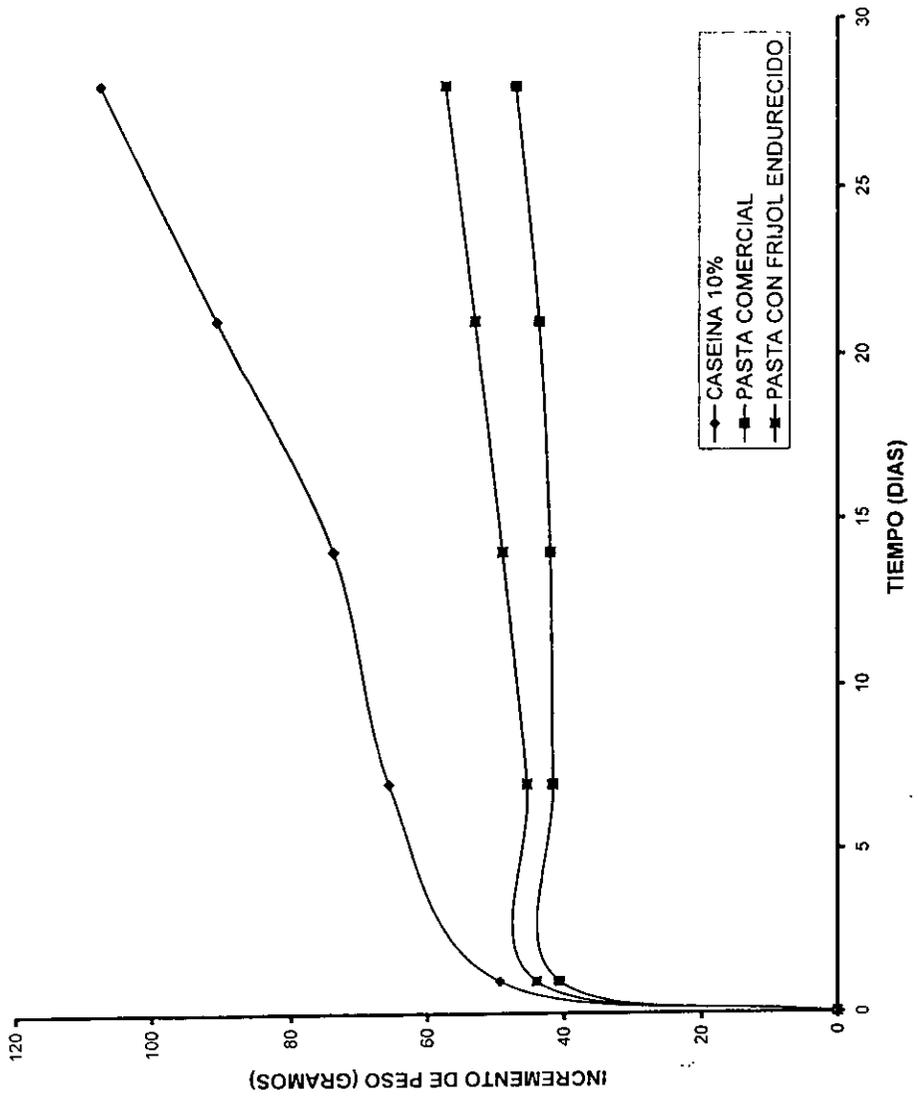
pasta comercial esto debido a que tenemos el sistema cereal/leguminosa que se complementan satisfactoriamente, a pesar de que la leguminosa esta endurecida la calidad de la proteína mejora; pero aún así el % PER es menor al 50% en las pastas con frijol endurecido mientras que para la pasta comercial es menor al 10% con referencia a la caserna.

Para el caso de las galletas los valores son significativamente diferentes entre las galletas comerciales y las galletas con frijol endurecido cuyos valores obtenidos fueron de %PER 13.256 vs 49.657 respectivamente, las causas a considerar por lo que se deba estos resultados son: primero para obtener el color característico de los productos horneados se lleva acabo la reacción de Maillard la cual implica la unión de carbohidratos con lisina la cual entonces se pierde en el proceso de cocción del producto afectándose más en la galleta comercial ya que en el caso de las galletas con frijol el valor es mayor lo que nos indica que si se dio la suplementación en este producto. Aunque si bien los valores de PER para las galletas son significativamente diferentes al control (caseína con 7% de proteína) por lo que podemos decir que en este producto, en un bajo contenido de la proteína y por la deficiencia del cereal en el aminoácido lisina resulta en una calidad nutricional para tener una mejor apreciación de estos resultados los mostramos a continuación en las gráficas 2, 3 y 4 en las que se tienen las curvas de crecimiento para cada sistema de comparación.

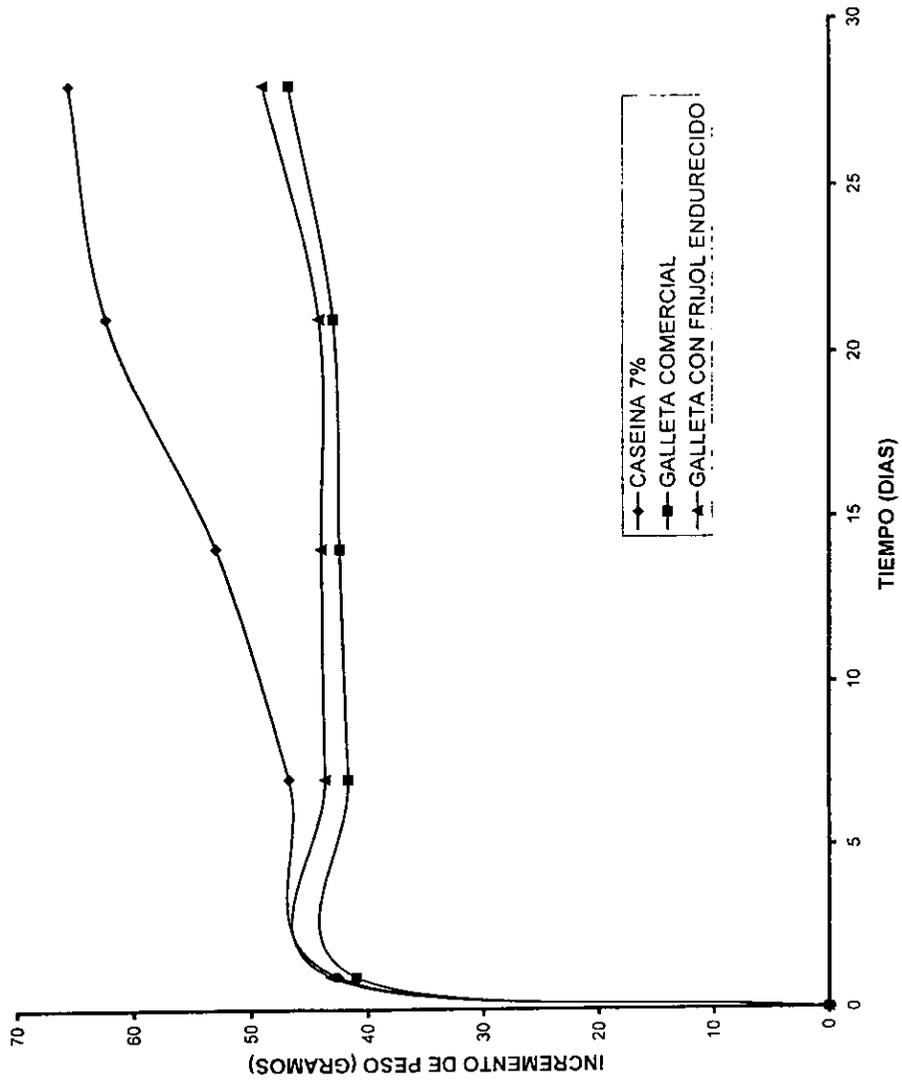
GRAFICA No.2 CURVA DE CRECIMIENTO



GRAFICA No.3 CURVA DE CRECIMIENTO



GRAFICA No.4 CURVA DE CRECIMIENTO



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CAPITULO V. CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados obtenidos en este estudio, podemos concluir que:

El almacenamiento del grano a 60°C por 40 días en condiciones de 75% de HR, produjo el endurecimiento en el frijol variedad "ojo de cabra", determinando mediante un aumento de tiempo requerido para la cocción (1.25 vs. 3.03 h).

El proceso de endurecimiento del frijol cambia las características físicas y químicas del frijol respecto a su contraparte sin endurecer.

La adición de sales como el NaHCO_3 y el Ca(OH)_2 en el agua de remojo antes de la cocción benefició en el caso de la variedad "ojo de cabra" para disminuir el tiempo requerido para la cocción de frijoles endurecidos.

El proceso de endurecimiento causa una disminución del % de PER de 1.35315 a 1.05856 que resulta ser un descenso del 21.77%

Se encontraron las formulaciones de los productos con frijol con las mejores características físicas y sensoriales, para con ellos evaluar la calidad de la proteína mediante la prueba biológica de PER.

En los resultados de la prueba biológica se observaron que los productos con frijol endurecido (sustituyendo 24.6% en galletas y 15% en pastas tipo tallarín) tienen un valor de % de PER mayor que los elaborados con solo trigo (los productos comerciales).

La complementación se observa a pesar de que la leguminosa presenta el defecto de endurecimiento.

Finalmente se puede decir que ambos productos con frijol endurecido resultaron ser buenas alternativas para la utilización de este tipo de grano, ya que mejora la calidad nutricia de los productos que se suplementan.

Esto era lo esperado ya que se está complementando la harina de trigo con una leguminosa.

CAPITULO VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Casanueva E., Kaufer-Horwitz M, Prez-Lizaur A.B., Arroyo P. 1995."Nutrilogía médica". Ed. Médica Panamericana S.A. de C.V. México. p 392-404.
2. Dutra de Oliveira J.E. 1975.Studies on the nutritive value of beans. Legume seeds. Legume seeds symposium. Medical School of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo.
3. Matthews R.H. 1989. "Legumes: Chemistry, Technology and human nutrition". Marcel Dekker Inc.
4. Ramírez A.Tito J. 1986. "Alternativas para el uso de frijol endurecido". Tesis. Facultad de Química, UNAM, México D.F.
5. Fennema, Owen R. 1993. Química de Alimentos. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
6. Alvarado F.A.L.1991. "El fenómeno del endurecimiento en relación con la estructura e histoquímica de la semilla seca de Phaseolus vulgaris variedad Michigan 800 y variedad ojo de cabra". Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F.

7. Vara F.Eva., Nieto V.Zoila., Durán de Bazúa C. 1996. Extrusión alcalina de frijol endurecido, usos potenciales en la industria alimentaria. Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

8. Muller, H.G. and Tobin, G. 1980. "Nutrition and Processing". AVI American Edition. Westport Connecticut.

9. Elías G. Luis. 1982. Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento del frijol. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 32 (2) 233-257.

10. Norma Oficial Mexicana. Galletas. NOM-F-6-1983.

11. García V.B.L. y Ortiz C.P. 1985. "Tecnología para la elaboración de pastas alimenticias". Tesis. Facultad de Química, UNAM, México, D.F.

12. Martin-Cabrejas, MA; Esteban, R.M.; Pérez, P.; Maina, G.; Waldron, K.W.1997. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) during long-term storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. August 1997 45(8), 3223-3227.

13. Liu Keshun. 1995. Cellular, biological, and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legume seeds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35(4), 263-298.
14. Liu, Keshun. 1997. Storage proteins and hard to cook phenomenon in legume seeds. *Food Technology*. May 51(5), 58-60.
15. MartinCabrejas, M.A; et al. 1995. Hard-to-cook phenomem in beans: Changes in antinutrient factors and nitrogenous compounds during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. December 69(4), 429-435.
16. Castellanos, J.Z; Guzmán, M.H; Acosta G, J.A and Kelly, J.D. 1995. Effects of hardshell character on cooking time of common beans grow in the semiarid highlands of México. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. December 69(4), 437-443.
17. Steel, C.J; Sgarbieri, V.C. and Jackix, M.H. 1995. Use of extrusion technology to overcome undesirable properties of hard-to-cook dry beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. September 43(9), 2487-2492.

18. Hentges D.L., Weaver C.M., Nielsen S.S.1990. Reversibility of the hard-to-cook defect in dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Science* 55(5), 55(5)1474,1476.
19. Ziena, M.M.; Youssef, M.M and El-Mahdy, A.R.1991. Amino acid composition and some antinutritional factors of cooked faba beans (Medammis): Effects of cooking temperature and time. *Journal of Food Science* 56(5), 1347-1349,1352.
20. Rahma EH, El-Bedawey A.A., El-Adawy, T.A., Goma M.A.1987. Changes in chemical and antinutritional factors and funcional propieties of Faba beans during germination. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 20(6), 271-276.
21. Anderson R.H. 1978. Protein quality Testing: Industry needs. *Food Tecnology*, December p65 y 68.
22. Hackler, L.R. 1978. An overview of the AACC/ASTM collabotive study on protein quality evaluation. *Food Technogy*, December.
23. Staub H.W. 1978. Problems in evaluating the protein nutritive quality of complex foods. *Food Tecnology*, December. p57-61.

24. Jansen G.R. 1978. Biological evaluation of protein quality. Food Technology, December.p52-56.

25. Sutton N.E., et. al The C-PER and T-PER assays for protein quality. Food Technology, December.p69-73.

26. Fox, B.A. y Cameron, A.G.1992. "Ciencia de los alimentos, nutrición y salud". Ed. Limusa, México. p321-329

27. Gómez, B.R.; Elías L.G., Molina, M.R. De la Fuente G. y Bressani R. 1975. Changes in chemical composition and nutritive value of common beans and other legumes during house cooking. Legume seeds. Legume seeds symposium. Medical School of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo.

28. Elías L.G., García S.A. y Bressani R. 1986. "Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol (phaseolus vulgaris)". Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala, 41p.

29. National Research Council. 1995. "Nutrient requirements of laboratory animals". Fourth revised edition, National Academy Press, Washington, D.C.

30. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.(AOAC) 14 Ed. Washington D.C. 1984.

31. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. AACC, 8th. ed. USA, 1983.

32. Bressani, R.; De Mora D. R.; Flores R.; Gómez-Brenes R. 1991. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y el efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 41(4), 569-581

33. Mc. Laughlam, J.M. and Kerth, M.O. 1975. Bioassays for protein quality in: Protein Nutritional Quality of food and feeds; Friedman, M. (Ed.); Marcel Dekker, Vol. 1 N.Y.

34. Moreno, E. y Ramirez, J. 1987. Comportamiento de siete variedades de frijol almacenadas bajo diferentes temperaturas. Turrialba Vol. 37 No. 2 p155-160.

35. Moreno, E.M., Carabez, A.T., Bernal, I.L. y Nieto, V.Z. 1986. Endurecimiento del frijol: sus causas, naturaleza, prevención y usos del frijol endurecido. UNAM publicaciones 36p.