



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ALTERNATIVA DE USO DEL FRIJOL
ENDURECIDO II. EXTRUSION

EXAMENEE PRESENTADO
FAC. DE QUIMICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
E V A V A R A F L O R E S



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1994



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 está 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. MARIA DEL CARMEN DURAN DOMINGUEZ DE BAZUA

VOCAL: Prof. ZOILA NIETO VILLALOBOS

SECRETARIO: Prof. LUCIA CORNEJO BARRERA

PRIMER SUPLENTE: Prof. MARCO ANTONIO LEON FELIX

SEGUNDO SUPLENTE Prof. FRANCISCO JAVIER CASILLAS GOMEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

UNAH, FACULTAD DE QUIMICA, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA,
LABORATORIO 201, EDIF. "B" E

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN, LABORATORIO DE
CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

ASESOR DEL TEMA:

M. EN C. ZOILA NIETO VILLALOBOS

Zoila Nieto

SUPERVISOR TECNICO:

Lucia

DRA.-ING. MA. DEL CARMEN DURAN DGUEZ. DE BAZUA

SUSTENTANTE:

EVA VARA FLORES

Eva Flores

A MIS PADRES:

Con todo mi cariño ya que, siempre me han brindado su amor, apoyo y confianza. Por enseñarme a afrontar los problemas con entereza, a seguir adelante siempre con optimismo, tratando de superarnos día con día. Por que gracias a ellos he logrado realizar una de mis metas.

¡Por esperarme pacientemente!

INFINITAMENTE GRACIAS

A MIS HERMANOS ELIA E ISAIAS:

Por estar siempre ha mi lado y compartir alegrías y sinsabores juntos.
Por exigirme ser mejor cada día.
GRACIAS INGENIEROS

A MIS ABUELITAS:

Que siempre me han dado sus consejos y cariño sin pedir nada a cambio.
LAS QUIERO MUCHO

A ALFREDDO:

Por ser un miembro más de la familia, por la "compu" y porque pronto estes en esta situación.
¡TE GANE!

A BERTHA Y MA. ELENA:

Por enseñarme lo que es la amistad, por su ayuda,
por estar conmigo cuando más necesite de un amigo.
GRACIAS AMIGAS

A TERE:

Gracias por ser mi amiga
y por tu confianza.

A PATY, ILEANA Y ADRIANA:

Por todos los gratos momentos que
hemos compartido. Espero que nuestra
amistad sea para siempre.

A MARISA:

Por tu confianza y amistad,
por creer en mí.

A LA DRA.-ING. CARMEN DURAN DE BAZUA:

Por su valiosa colaboración para hacer de este proyecto una realidad. Gracias por su tiempo, apoyo y paciencia.

ESPECIALMENTE A LA M. en C. ZOILA NIETO VILLALOBOS:

**Por brindarme su confianza para la realización de este trabajo de investigación, por su apoyo e invaluable ayuda, por sus consejos, por ser amiga y maestra.
Gracias por darme la oportunidad de realizar uno de mis objetivos profesionales.**

AL INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION "SALVADOR ZUBIRAN":

Por todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo. Porque gracias a instituciones como esta es posible hacer investigación.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO:

**Por darme la oportunidad de ser parte de ella e integrarme a su fraternidad.
Por brindarme inolvidables vivencias y a quien debo mi formación profesional.**

EUA.

INDICE

RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	16
III. GENERALIDADES	17
3.1 Composición del frijol	18
3.2 Digestibilidad	20
3.3 Factores tóxicos	21
3.3.1 Inhibidores de tripsina	22
3.3.2 Hemaglutininas	25
3.3.3 Glucósidos cianogénicos	26
3.3.4 Factores antivitaminicos	27
3.3.5 Acido fítico	27
3.4 Cultivo y producción	29

3.5	Manejo post-cosecha	30
3.6	Proceso de endurecimiento	30
3.7	Extrusión	37
3.7.1	Proceso de extrusión	39
3.7.2	Ventajas del proceso de extrusión	41
IV.	DISEÑO EXPERIMENTAL	45
4.1	Esquema de la metodología	47
4.2	Análisis selectivo del grano	47
4.3	Caracterización física del grano	48
4.4	Análisis bromatológico	49
4.5	Proceso de extrusión	50
4.6	Cocción tradicional y con adición de Ca(OH)_2	51

4.7	Determinación de inhibidores de tripsina	51
4.8	Determinación de ácido fítico	52
4.9	Prueba biológica	52
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	55
VI.	SUGERENCIAS	71
VII.	CONCLUSIONES	73
VIII.	BIBLIOGRAFIA	75
IX.	ANEXO	86

RESUMEN

En este trabajo se empleó el proceso de extrusión sobre frijol de la variedad "ojo de cabra", con la finalidad de determinar la posibilidad de aprovechar este material, considerado generalmente como muy susceptible al endurecimiento.

Un lote de 30 kg aproximadamente fue caracterizado físicamente midiendo peso hectolítrico, densidad relativa, grado de absorción de agua, daños y defectos físicos y porcentaje de cáscara. Se le realizaron también análisis químicos antes y después de someterlo a un proceso de endurecimiento acelerado (almacenamiento a 60°C con 75% de humedad relativa durante 40 días). Para ello, se tomaron muestras que se molieron en un molino CeCoCo a 20 mallas y se les determinó humedad, cenizas, fibra, grasa y proteína crudas, así como carbohidratos asimilables.

Para la operación de extrusión se empleó un extrusor Wenger X-5 que el Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" facilitó para la realización de este proyecto de tesis. Las condiciones de operación fueron las siguientes: temperatura en las diferentes zonas del extrusor (zona de alimentación, transición y extrusión respectivamente) de 60, 110 y 115° C, $w=720\text{rpm}$, $L/D=10:1$, tiempo de residencia de 2 min (medidos desde la alimentación de la muestra hasta que ésta salía por la boquilla del extrusor).

Las muestras a extrudir tenían las siguientes características: harinas que pasaran por malla 20 con un contenido de humedad de 24% adicionadas con 5% de aceite con objeto de facilitar el tránsito de éstas a través del barril del extrusor, con y sin adición de 0.3% de Ca(OH)_2 . Cabe mencionar que sólo se extrudieron muestras endurecidas, con y sin adición de 0.3% de Ca(OH)_2 .

En los productos extrudidos se evaluó el efecto del proceso sobre algunos factores antifisiológicos (inhibidores de tripsina, ácido fítico), así como la calidad proteínica (relación de eficiencia proteínica), en experimentos in vivo.

Los resultados obtenidos se compararon con los correspondientes a muestras endurecidas cocinadas tradicionalmente con y sin adición de 0.3% de Ca(OH)_2 , así como con datos de la literatura de una muestra de la misma variedad de estudio suave cocinada tradicionalmente (Muciño-Raymundo, 1989).

La cocción tradicional se efectuó de la siguiente manera: en una olla con 4 litros de agua en ebullición se colocaron 2 kg de frijol y durante períodos controlados de tiempo (cada 15 min) fueron retiradas del recipiente de cocción muestras de granos a los que se les presionaba con los dedos índice y pulgar para determinar la textura de estos. Se consideraban granos cocidos aquellos que presentaban una textura arenosa entre los dedos. Este tratamiento es el mismo que se aplicó en los trabajos que se mencionan más adelante y que en algunas partes se denomina cocción a presión atmosférica. Los tiempos necesarios para

alcanzar esta textura fueron de 6.10 h para frijol endurecido y de 3.5 h para su contraparte no endurecida.

Los resultados obtenidos mostraron una clara disminución de compuestos tóxicos debida al proceso de cocción. El porcentaje de ácido fítico inactivado osciló entre 30.75% (muestra suave cocinada tradicionalmente) y 45.80% (muestra endurecida extrudida con adición de 0.3% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$). En la determinación de inhibidores de tripsina el porcentaje de inactivación fluctuó entre 50.137% (muestra suave cocinada tradicionalmente) y 80.11% muestra endurecida extrudida con adición de cal).

Se pudo determinar que el efecto destructivo que ejerce el proceso de cocción sobre los factores anafisiológicos aquí estudiados fue mayor en las muestras extrudidas. Así también, se observó que la presencia de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tiene un efecto importante sobre la susceptibilidad de los compuestos tóxicos ya que las muestras a las que se les adicionó esta sustancia independientemente de su condición (suaves o endurecidas) mostraron un porcentaje de destrucción de compuestos tóxicos mayor sin importar el proceso de cocción del que fueron objeto (extrusión: ácido fítico 45.80%, inh. tripsina 80.11%; cocción a presión atmosférica: ácido fítico 37.04%, inh. tripsina 64.63%).

Por otra parte, los valores obtenidos de la REP oscilaron entre 1.099 (muestra endurecida cocinada tradicionalmente) y 1.321 (muestra endurecida extrudida con adición de 0.3% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$), se obtuvo un incremento en los valores de la relación de eficiencia proteínica (REP) en las muestras extrudidas siendo significativamente diferentes con respecto al valor

correspondiente a la muestra suave cocinada tradicionalmente. Igualmente que en la determinación de compuestos tóxicos, se observó que la presencia de Ca(OH)_2 en las muestras ejerce un efecto favorable ya que, los valores más altos de REP correspondieron a las muestras que fueron adicionadas con este compuesto (1.188 muestra endurecida con cocción alcalina y 1.132 muestra endurecida extrudida con cal).

De acuerdo con los resultados obtenidos se infiere que la adición de Ca(OH)_2 a las muestras es una práctica recomendable puesto que resulta en un producto con menor contenido de sustancias tóxicas y de calidad proteínica (medida como relación de eficiencia proteínica) mayor y, probablemente, más fácil de asimilar por el organismo.

Con referencia a los métodos de cocción aquí estudiados, se infiere la conveniencia de emplear el proceso de extrusión para cocer el grano ya que, el tiempo requerido para este propósito es mucho menor y se obtiene un producto con características semejantes a las de un producto cocinado tradicionalmente (contenido de compuestos tóxicos y calidad proteínica). Además de otras ventajas como por ejemplo: facilidad para procesar grandes cantidades de producto en corto tiempo, ahorro de energía, etc. Empero, algunas de las desventajas de este proceso serían la necesidad de procesar el material en forma granular, lo que implica una molienda previa y el desarrollo de nuevas presentaciones ya que, el producto obtenido por este método no conserva su forma original, lo que pudiera causar cierto rechazo por parte del consumidor.

En general, los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la cocción por extrusión puede ser un método apropiado en la industrialización y aprovechamiento del grano de frijol mal almacenado que presenta la condición de endurecimiento.

I. INTRODUCCION

El frijol (Phaseolus vulgaris) es una de las leguminosas más importantes del mundo, particularmente en los países en vías de desarrollo ya que, para sus habitantes, constituye la principal fuente de proteína.

Una vez que se cosecha el grano, sigue un proceso que consta de varios pasos antes de llegar al consumidor. A esta serie de etapas se les conoce como manejo post-cosecha. Un manejo inadecuado del grano durante cada una de estas etapas puede provocar pérdidas en la cantidad y calidad del producto. La severidad de las pérdidas es diferente en cada una de las fases, siendo en la de almacenamiento donde se dan las pérdidas más importantes. En nuestro país, la cantidad y calidad del frijol disminuye conforme avanza la cadena post-cosecha. Esto sucede básicamente por deficiencias en la infraestructura y en los servicios inherentes al sistema post-cosecha.

Las condiciones climatológicas prevalecientes en nuestro país constituyen un factor importante sobre el deterioro del grano en almacén ya que el grano está expuesto a factores físicos adversos como son humedad y temperatura altas, lo que provoca la pérdida de calidad del grano y da origen a la condición denominada endurecimiento del grano en almacén.

El frijol se consume generalmente después de un proceso de cocción que origina el ablandamiento del grano y la generación del sabor

característico del producto. La dificultad que presenta el grano endurecido para suavizarse durante el proceso de cocción, así como su deterioro principalmente en las características de olor y sabor que en ocasiones sufre el producto, constituyen la razón por la cual el frijol endurecido es rechazado.

Con el fin de subsanar en alguna medida las pérdidas post-cosecha del frijol y, en especial, de aquellos que presentan la condición de endurecimiento se piensa que la aplicación de nuevas tecnologías con menor consumo energético son una posibilidad para el aprovechamiento de este producto.

Una de estas nuevas tecnologías es la extrusión ya que, debido a la versatilidad del proceso, representa en la actualidad uno de los sistemas más importantes en la elaboración de alimentos procesados (Guerra y Durán-de-Bazúa, 1977; Guerra, 1978).

En una investigación realizada por la Escuela de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional denominada "Evaluación de la calidad reológica y nutricional de un producto extrudido elaborado con frijol endurecido" se abordaron diferentes aspectos reológicos de los productos extrudidos. En esa investigación se experimentó simultáneamente la presencia o ausencia de testa, con y sin adición de 0.3% de Ca(OH)_2 a las muestras de frijol negro comercial (Phaseolus vulgaris).

El proceso de extrusión se efectuó en un extrusor Brabender, las harinas se ajustaron a una humedad de 14% y las temperaturas en el barril

fueron de 100, 160 y 160°C en las zonas de alimentación, transición y extrusión respectivamente. El extrusor tenía un tornillo con una relación L/D=10:1. La evaluación de textura del producto se efectuó en un Instron Universal utilizando la celda Kramer y la viscosidad aparente se determinó en un viscosímetro Haake.

Los aspectos reológicos estudiados fueron resistencia al corte, índice de expansión y viscosidad, así como la calidad nutricia determinada por los siguientes ensayos: triptofano, lisina reactiva, actividad hemaglutinante, relación de eficiencia proteínica, relación neta proteínica y digestibilidad verdadera. Asimismo, se evaluó la solubilidad de las proteínas en los productos y el comportamiento electroforético de éstas en los extractos correspondientes, para relacionar la respuesta reológica y nutricia de los productos extrudidos con los cambios conformacionales de la proteína.

La tabla 1-1 presenta los resultados obtenidos en esa investigación (Martínez-Ayala, 1989).

TABLA 1-1. RESULTADOS OBTENIDOS DE LA EXTRUSION DE FRIJOL NEGRO COMERCIAL EN UN EXTRUSOR BRABENDER (Martínez-Ayala, 1989)

PRUEBA	EXTRUSION CON TESTA Y 0.3% DE Ca(OH) ₂	EXTRUSION CON TESTA	EXTRUSION SIN TESTA Y 0.3% DE Ca(OH) ₂	EXTRUSION. SIN TESTA	FRIJOL COCIDO	FRIJOL CRUDO
RESISTENCIA AL CORTE (kgf/cm ²)	73.2	89.6	75.4	78.1	--	--
VISCOSIDAD DE PASTA (mPa.s)	118	112	174	140	--	--
TRIPTOFANO (g/16gN)	1.06	1.10	1.15	1.02	0.91	1.58
LISINA (g/16gN)	4.91	5.09	5.09	4.82	4.37	5.32
*A.H.T ¹ (10 ³)	2 ¹	2 ²	2 ¹	2 ²	2 ⁰	2 ⁸
REP	1.7	1.6	1.7	1.6	1.3	--
RNP	2.8	2.7	2.8	2.7	2.4	--
D.V.	83.1	79.3	84.0	70.3	79.6	--
I.S.N.	26.56	22.33	27.95	21.33	24.10	82.3

¹ Actividad hemaglutinante, título

*Título de aglutinación utilizando eritrocitos humanos tipo A⁺ sin "tripsinar"

I.S.N.: índice de solubilidad de nitrógeno

D.V.: digestibilidad verdadera

RNP: relación neta proteínica

REP: relación de eficiencia proteínica

Las características reológicas obtenidas para los productos extrudidos sugirieron cambios estructurales en los principales constituyentes del grano de frijol endurecido: proteínas y almidón. En la evaluación nutricional se encontró que los productos extrudidos ofrecen ventajas

sustanciales sobre el frijol cocido a presión atmosférica, ya que se encontró menor pérdida de triptofano y de lisina reactiva por extrusión y los títulos de hemaglutinación para ambos productos fueron equivalentes. También, se observó un incremento en los valores de la relación de eficiencia proteínica (REP) y la relación neta proteínica (RNP) en los extrudidos, con respecto al valor obtenido para el frijol cocido a presión atmosférica, así como un valor de digestibilidad verdadera mayor en los productos extrudidos en presencia de álcali.

La cocción a presión atmosférica y por extrusión a que fue sometido el frijol, disminuyó el índice de solubilidad de nitrógeno (ISN) y la solubilidad de las proteínas frente a diferentes soluciones extractoras. Este comportamiento sugirió que en ambos procesos ocurrieron cambios en la estructura de las proteínas. La solubilidad de las proteínas no se mejoró al utilizar mercaptoetanol (ME) como agente reductor de enlaces disulfuro, mientras que se incrementó al adicionar dodecilo sulfato de sodio (SDS) a la solución extractora.

De este modo se pudo postular que, durante el tratamiento térmico, la proteína experimentó el fenómeno de gelación y que las reacciones químicas de agregación podrían estar dadas por enlaces no covalentes. Al comparar los patrones electroforéticos de los extractos obtenidos con solución reguladora de Tris hidroximetil amino metano-ácido clorhídrico (Tris-HCl) adicionado de SDS y ME, se observó que la extrusión tuvo un efecto desnaturalizante mayor que la cocción a presión atmosférica, sobre las fracciones proteínicas que se encuentran en mayor proporción. Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que los productos extrudidos ofrecen propiedades reológicas y nutricias satisfactorias,

ratificando la posibilidad de aprovechamiento del frijol relegado para su consumo por presentar el fenómeno de endurecimiento.

Otra investigación realizada anteriormente en la Escuela de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional por Crail-Chávez (1987) estudió básicamente los cambios ocurridos en el grano de frijol negro (Phaseolus vulgaris) endurecido, sometido a un tratamiento térmico alcalino. Se probaron varias concentraciones de Ca(OH)_2 (1.30, 0.65, 0.13 y 0.0%) con y sin remojo, siendo la de 0.65% la que resultó ofrecer las mejores características del producto en ambos casos.

Se observó que el aumento en la concentración de cal disminuye el tiempo de cocción (60 y 45 minutos para las muestras con una concentración de 1.3% de Ca(OH)_2 sin y con remojo respectivamente contra 100 y 75 minutos de la muestra con un concentración de 0.13% de cal sin y con remojo), pero también repercute en las características sensoriales del producto ya que, a mayor concentración de álcali, se obtuvo una coloración amarilla y un olor a cal más intensos en el grano, descritos como desagradables.

Por otra parte, con el propósito de determinar el efecto que pudiesen tener el remojo y la concentración de cal sobre las características de textura las muestras fueron sometidas a varias pruebas físicas de textura en un equipo Instron Universal y se calculó la resistencia a la punción así como, la fuerza de deformación, la firmeza y la deformación tanto, en la testa como en el cotiledón. Estos resultados se muestran en la tabla 1-2.

Los resultados arrojados por el remojo previo de 24 horas sobre la textura del frijol no mostraron diferencias significativas ($P=0.05$) entre las muestras con remojo y sin remojo por lo que se pudo afirmar que el remojo previo de 24 horas a que fue sometido el grano no ejerce efecto alguno sobre la textura del mismo. Al igual que en el caso del remojo, el efecto de la concentración de cal sobre la textura no reflejó diferencias estadísticamente significativas entre las muestras. Sin embargo, numéricamente los mejores resultados correspondieron a las muestras que contenían 0.65 y 1.3% de Ca(OH)_2 .

Al evaluar el efecto combinado remojo-cal no se obtuvieron diferencias significativas entre las muestras cocinadas con o sin remojo previo y en presencia de cal. Pero, numéricamente resultaron mejores las muestras con 0.65 y 1.3% de cal con remojo previo, por lo que se seleccionaron para determinar las condiciones óptimas de cocción.

Una vez seleccionadas las concentraciones para determinar las condiciones óptimas de cocción del frijol se realizó el análisis proximal de estas dos muestras. Los resultados obtenidos mostraron un aumento en el contenido de minerales, debido a la adición de cal (2.3, 3.7 y 4.9% en las muestras sin tratamiento, con 0.65% y 1.3% de cal respectivamente). El contenido de proteína no se modificó debido al tratamiento con álcali. Por otra parte, el contenido de fibra cruda disminuyó en las muestras que contenían una concentración de 1.3% de hidróxido, debido probablemente a una hidrólisis de celulosa y hemicelulosa o al proceso de lavado. Los resultados fueron 4.7% para la muestra sin tratamiento, 4.8% para la

muestra con 0.65% de cal y 0.5% para la muestra con un contenido de cal de 1.3%.

TABLA 1-2 EFECTO DE LA CONCENTRACION DE CAL Y DEL REMOJO SOBRE LA TEXTURA DEL FRIJOL (Crail-Chávez, 1987)

ENSAYO	RESIST. DE TESTA A PUNCIÓN (g)	RESIST. COTILEDON PUNCIÓN (g)	FUERZA DE DEFORMACION (kgf/cm ²)	FIRMEZA (kgf/mm)	DEFORMACION (mm)
0.0% Ca(OH) ₂	269.083	144.583	0.591	0.269	0.441
0.13% cal	497.083	235.667	1.09	0.401	0.358
0.65% cal	315.917	116.833	0.690	0.214	0.525
1.3% cal	156.417	119.00	0.373	0.194	0.533
SIN REMOJO	341.708	150.083	0.75	0.296	1.43
CON REMOJO	277.542	157.96	0.625	0.268	0.492

Una vez que se realizó el análisis proximal se llevó a cabo una determinación de aminoácidos tanto en muestras de frijol crudo como en aquellas en que el frijol fue sometido a tratamiento térmico y térmico alcalino. Los resultados de este estudio se presentan en la tabla 1-3.

Se observó cierta semejanza en el contenido de cada aminoácido entre las diferentes muestras, con excepción de los azufrados, los que disminuyeron de acuerdo al incremento en la concentración de álcali. Sin embargo, la autora informa que no fue posible determinar si esta diferencia fue estadísticamente significativa.

TABLA 1-3 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN FRIJOL CRUDO Y FRIJOL SOMETIDO A

DIFERENTES TRATAMIENTOS (Crail-Chávez, 1987)

AMINOACIDO	FRIJOL CRUDO	FRIJOL COCIDO	FRIJOL COCIDO CON CAL AL 0.65%	FRIJOL COCIDO CON CAL AL 1.3%	Patrón FAO
VALINA	5.97	5.41	5.90	5.65	5.0
ISOLEUCINA	5.00	4.57	5.11	4.99	4.0
TREONINA	3.94	4.02	4.04	4.04	4.0
TRIPTOFANO	0.82	0.96	0.92	0.86	1.0
FENILALANINA-TIROSINA	9.04	9.04	9.51	9.44	6.0
LEUCINA	9.18	9.00	9.53	9.18	7.0
METIONINA-CISTEINA	2.58	2.88	2.11	1.66	3.5
ACIDO ASPARTICO	11.93	11.88	11.73	11.51	-
SERINA	5.18	5.67	5.70	4.81	-
ACIDO GLUTAMICO	17.54	15.73	16.34	16.18	-
PROLINA	2.91	3.62	3.21	3.53	-
GLICINA	4.28	3.89	4.28	4.22	-
ALANINA	5.035	4.30	4.65	4.77	-
LISINA					
DISPONIBLE	5.27	5.58	5.17	4.63	5.5

Finalmente se pudo asentar que, si bien el tratamiento con álcali no mejora el patrón de aminoácidos del frijol, tampoco lo hace más deficiente en lo referente a los aminoácidos azufrados.

Por otra parte, una investigación realizada en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México denominada "Efecto del endurecimiento acelerado sobre el contenido de los iones Ca, Mg y ácido fítico en el frijol" (Muciño-Raymundo, 1989), estudió el valor nutritivo, el efecto del endurecimiento sobre el contenido de ácido fítico y de los iones Ca y Mg en tres variedades de frijol que fueron Michigan, negro huasteco y "ojo de cabra" (variedades que presentan diferente resistencia al endurecimiento), sometidos a diferentes tratamientos (cocción, germinación y tratamiento térmico alcalino).

La determinación colorimétrica de ácido fítico se realizó siguiendo las recomendaciones de Haug y Lantzsch (1983) (ver anexo).

Los resultados obtenidos mostraron un decremento en el contenido de ácido fítico en las muestras endurecidas (muestra suave: 11.131-10.108mg/g cotiledón, muestra endurecida: 8.116-7.840mg/g cotiledón), debido probablemente a una lisis de cuerpos proteicos (sitio en donde se encuentra la fitina y aproximadamente un 70% de la proteína citoplasmática), favoreciendo la interacción enzima-sustrato.

El contenido de este compuesto también se vio afectado por los diferentes tratamientos a que se sometió el grano de frijol ya que, en todos los casos se obtuvo un valor inferior al obtenido para la muestra sin tratamiento. Estos resultados se muestran de manera global en la tabla 1-4.

Se pudo asentar que la cocción tradicional y el tratamiento térmico alcalino fueron los tratamientos que mayor pérdida de ácido fítico registraron. La variedad Michigan fue la que experimentó la menor pérdida, seguida por la de negro huasteco y, finalmente, "ojo de cabra". El contenido de los iones Ca y Mg se determinó, tanto en el cotiledón como en la cáscara de las muestras.

TABLA 1-4 RESULTADOS GLOBALES DEL CONTENIDO DE ACIDO FITICO (Muciño-Raymundo, 1989)

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE ACIDO FITICO (mg/g cotiledón)	
	MUESTRAS SUAVES	MUESTRAS ENDURECIDAS
COCCION	9.194-7.822	5.764-4.716
GERMINACION	9.759-9.003	7.531-5.155
TRATAMIENTO TERMICO ALCALINO	8.553-7.696	6.532-4.874

Esta determinación se efectuó en el laboratorio de Absorción Atómica de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, UNAM. Los resultados se concentran en la tabla 1-5.

Las abreviaturas empleadas en la tabla 1-5. MS: Michigan suave, ME: Michigan endurecido, NHS: negro huasteco suave, NHE: negro huasteco endurecido, OCS: "ojo de cabra" suave, OCE: "ojo de cabra" endurecido.

El contenido de estos iones en el cotiledón no se vió afectado por el proceso de endurecimiento ya que no se obtuvo diferencia significativa entre los valores de ambas muestras (suaves y endurecidas).

TABLA 1-5 CONTENIDO DE IONES Ca Y Mg EN LOS FRIJOLES (Muciño-Raymundo, 1989)

MUESTRA	C O T I L E D O N		C A S C A R A	
	Ca (mg/mg)	Mg (mg/mg)	Ca (mg/mg)	Mg (mg/mg)
MS	513	1623	390	623
ME	525	1640	425	604
NHS	505	1519	380	570
NHE	493	1570	433	590
OCS	545	1610	340	610
OCE	505	1592	420	602

En cuanto a la cáscara se determinó que el contenido de Ca se incrementa debido a la presencia del endurecimiento y que este incremento repercute directamente sobre el grado de dureza del grano (el mayor incremento registrado se obtuvo en el frijol de la variedad "ojo de cabra").

Los resultados globales de la relación de eficiencia proteínica se muestran en la tabla 1-6, junto con los de digestibilidad aparente. Los valores de REP más altos correspondieron a las muestras suaves cocinadas tradicionalmente. Los resultados obtenidos para las muestras endurecidas fueron, en general, inferiores con la excepción de las muestras germinadas.

TABLA 1-6 RESULTADOS GLOBALES DE LA REP Y DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE
(Muciño-Raymundo, 1989)

TRATAMIENTO	R E P		% DIGEST. APARENTE	
	SUAVES	DURAS	SUAVES	DURAS
COCCION	1.49-1.13	1.23-0.37	72.81-63.09	70.65-53.17
GERMINACION	1.20-0.72	1.46-0.76	68.64-54.70	74.33-61.91
TRATAMIENTO TERMICO ALCALINO	1.46-0.97	0.92-*	52.15-49.81	35.70-49.81

El daño que el endurecimiento ocasiona sobre el valor nutricio del frijol se hizo más evidente en la determinación del porciento de digestibilidad aparente ya que la variedad más resistente al endurecimiento (Michigan) fue la que mejores resultados obtuvo.

Por último se pudo asentar que el porciento de digestibilidad aparente guarda una relación directa con el contenido de ácido fítico. Esto es, a mayor contenido de ácido fítico se tiene un mayor porciento de digestibilidad aparente. Por otra parte, también se concluyó que el

tiempo de cocción depende del contenido de ácido fítico, ya que la pérdida de ácido fítico se traduce en mayores tiempos de cocción.

Finalmente, una investigación realizada por Pak y Araya (1981) analizó el valor nutritivo del frijol extrudido (*Phaseolus vulgaris*) variedad tórtola, obtenido de la industria alimenticia, para determinar su composición química, calidad biológica de la proteína, suplementación aminoacídica y contenido de hemaglutininas. Se estudiaron diferentes formulaciones con este producto destinadas a la alimentación del preescolar y escolar.

La utilización neta proteínica, UNP, de las muestras estudiadas fluctuó entre 37.3 y 43.9 y el título de hemaglutininas, de 0 a 2. Se observó un notorio incremento en la calidad proteínica al agregar metionina (mezcla racémica) al frijol precocido.

Se formularon seis mezclas con el frijol extrudido en concentraciones de 30 a 80% con arroz, harina de trigo, leche descremada y D,L-metionina. El contenido proteínico osciló entre 16.4 y 26.8g/100g y la UNP entre 58.5 y 69.7. Se discutió la efectividad de estas mezclas para satisfacer las necesidades de energía y proteínas de acuerdo al informe FAO/OMS de 1973 (Pak y Araya, 1981).

Se concluyó que la harina de frijol extrudido es un alimento promisorio en la alimentación del lactante y preescolar, en especial cuando se incorpora a mezclas que mejoren su potencialidad para satisfacer los requerimientos energéticos y proteínicos en estos grupos de edad.

Con base en esta revisión bibliográfica, el presente trabajo busca corroborar el efecto del proceso de extrusión sobre algunos factores antifisiológicos y la calidad de la proteína del frijol endurecido extrudido, por medio de la relación de eficiencia proteínica, REP.

II. OBJETIVOS

En el presente trabajo se plantea como objetivo determinar el efecto que tiene un proceso de extrusión dado sobre el frijol que ha desarrollado la característica de endurecimiento durante el almacenamiento midiendo: el porcentaje de destrucción de factores antifisiológicos (inhibidores de tripsina y ácido fítico), y por medio de un ensayo biológico (relación de eficiencia proteínica), determinar la calidad de la proteína. Finalmente, con base en los resultados obtenidos, se plantearán algunas opciones de empleo de dicho proceso en la industrialización de este tipo de frijol.

Asimismo, se plantea la posibilidad de proponer algunos productos elaborados a partir de harinas de frijol extrudido que deberán ser estudiados posteriormente desde el punto de vista de factibilidad económica y aceptabilidad sensorial.

III. GENERALIDADES

Las leguminosas han sido uno de los primeros cultivos comestibles practicados por el hombre. Su historia como plantas cultivadas se remonta a los tiempos neolíticos, en la época en que el hombre pasaba de la caza y la recolección de frutos a la producción de alimentos mediante el trabajo y adoptaba un nuevo medio de vida basado en comunidades agrícolas que, a su vez, condujeron a la civilización urbana. Las leguminosas son plantas perennes, dicotiledóneas que se cultivan tanto en los trópicos como en la región subártica. Crecen normalmente en suelos ligeramente alcalinos o neutros, a nivel del mar o sobre el nivel del mar (Rockland y Radke, 1981).

Las leguminosas no son solamente una valiosa fuente de proteínas y aminoácidos sino que, también, contribuyen con otros nutrimentos como vitaminas -entre ellas tiamina, niacina, vitamina B₆- y elementos como el fósforo, hierro, magnesio y potasio. No contienen colesterol y son una buena fuente de carbohidratos complejos.

La importancia nutricia del frijol radica en su aporte proteínico a la dieta en general, además de su contribución con cantidades significativas de otros nutrimentos como hierro y tiamina, así como calcio y niacina. Su importancia nutrimental, sin embargo, es mayor, ya que constituye el suplemento proteínico natural de la proteína de los cereales (Bressani, 1982, 1989; Nielsen, 1991).

3.1 COMPOSICION

PROTEINAS

La importancia desde el punto de vista nutricio se debe a su alto contenido de proteínas. Sin embargo, se considera que estas proteínas tienen un valor inferior en comparación con otras proteínas, ya que son deficientes en metionina, cisteína y, en algunos casos, en triptofano pero no en lisina, por lo que se consideran como suplementos para las proteínas contenidas en los cereales.

Las proteínas en las semillas están localizadas en el cotiledón, en los ejes embrionarios y solo en pequeñas cantidades se presentan en la cáscara de las semillas. Los cotiledones contienen aproximadamente 27% de proteína, mientras que los ejes embrionarios y la cáscara contienen 48% y 5%, respectivamente. Los cotiledones contribuyen con mayor cantidad de proteína por su gran peso (Bressani, 1972).

GRASA

El contenido de grasa de la mayoría de los frijoles (género Phaseolus) oscila entre 1.5 y 2.7%. Las grasas de las leguminosa en general son ricas en ácidos grasos esenciales (Hernández y col., 1987).

VITAMINAS

Tiamina: El contenido de tiamina de las leguminosas como grupo es más o menos equivalente o excede ligeramente al del conjunto de los cereales. Estos valores oscilan entre 0.42 y 0.72 mg/100g de muestra (Hernández y col., 1987).

Riboflavina: El contenido de esta vitamina varía de acuerdo a la variedad de frijol, pero en general se ha podido establecer que éste va de 0.12 a 0.19 mg/100g de muestra (Hernández y col., 1987; Gaurth y col., 1983; Carpenter, 1981).

Niacina: Los frijoles son una buena fuente de niacina, cuyo contenido varía entre 1.3-2.1 mg/100g de muestra.

Algunas de las leguminosas contienen carotenoides y carotenos pero no contribuyen mucho como precursores de vitamina A. El contenido de las leguminosas según datos disponibles es del orden de 50 a 300 unidades internacionales de vitamina A. Para el frijol común (Phaseolus vulgaris), se reportan 1-3 mEq de retinol (Hernández y col., 1987).

La vitamina K y los tocoferoles también se han podido encontrar en las semillas de las leguminosas, pero en pocas cantidades. En cuanto a la vitamina C, Cravioto y col (1945), encontraron ácido ascórbico en los frijoles comunes (Phaseolus vulgaris), en cantidades superiores a 3.4 mg/100g de muestra; sin embargo, Hernández y col. (1987) reportan valores de 1 mg/100g de muestra.

MINERALES

Calcio: Las leguminosas en general son fuentes comparativamente pobres de calcio en la dieta. El valor más alto reportado es menor de 300 mg/100g de muestra, por lo que el contenido de calcio está siempre cerca de 100mg/100g de muestra o menos. Para frijoles se reportan 86mg/100g de muestra.

Hierro: El contenido de este mineral en las leguminosas es relativamente alto y es aproximadamente de 2 a 10mg/100g de muestra. Para el frijol se reportan 4.7-5.9mg/100g de muestra dependiendo de la variedad (Gaurth y col., 1983; Hernández y col., 1987).

CARBOHIDRATOS

Las leguminosas en su forma seca producen casi tantas calorías por unidad de peso como los cereales, pues contienen aproximadamente 60% de carbohidratos que, en general, se absorben y se utilizan bien; considerándose una buena fuente de energía.

3.2 DIGESTIBILIDAD

La digestibilidad de las proteínas se considera como un indicador de su calidad (Hernández y col., 1984). En el frijol, la digestibilidad varía en un intervalo que va de 55% a 88%, con un valor medio de 77% (Rockland y Radke, 1981; Hernández y col., 1984; Nielsen, 1991). Sin embargo, la digestibilidad se ve limitada por factores antifisiológicos presentes en

la semilla. Entre ellos se incluyen a los inhibidores de tripsina y quimotripsina (Márquez y Lajolo, 1981; Deshpande y Nielsen, 1987).

Reddy y col. (1989), consideran que los fitatos afectan de alguna manera a la digestibilidad. Sin embargo, otros autores no lo consideran así (Thomson y Serraino, 1986; Deshpande y Damodaran, 1989). Otros factores que afectan negativamente a la digestibilidad son los polifenoles (Phillips y col., 1981) y el contenido de fibra (Newman y col., 1987; Rockland y Radke, 1981).

3.3 FACTORES TOXICOS

En los frijoles y en algunas leguminosas se encuentran factores tóxicos; la mayoría de éstos son termolábiles, pero también los hay termoestables.

La toxicidad de estas semillas se presenta aparentemente sólo cuando los frijoles se encuentran en su estado crudo, ya que por cocción adecuada se puede eliminar.

Esto se ha puesto de manifiesto en estudios realizados con animales de experimentación, a los que se les alimentó con dietas de frijol crudo. Sin embargo, cuando estos frijoles se sometían a un tratamiento de cocción ya no se manifestaba ese efecto tóxico (Jaffé y Flores, 1975; Mitjavila, 1990; Bonilla y col., 1990). Entre los factores tóxicos presentes en los frijoles se encuentran los inhibidores de tripsina, hemaglutininas o lectinas, glucósidos cianogénicos, factores

antivitamínicos, otros inhibidores de proteasas, factores que producen flatulencia y la acción del ácido fítico. A continuación se detallan algunos de ellos

3.3.1 INHIBIDORES DE TRIPSINA

Un inhibidor de enzimas puede definirse ampliamente como cualquier sustancia que reduce la acción enzimática. "In vivo"; la inhibición de una enzima da como resultado:

- 1) Que se afecte la unión y transformación de un sustrato o producto
- 2) Hace al sustrato indisponible
- 3) Interfiere en la biosíntesis de la enzima
- 4) Incrementa la liberación de la enzima
- 5) Afecta una hormona, la cual a la vez afecta el nivel de actividad de la enzima.

Dentro de los inhibidores que más frecuentemente se reportan en alimentos, se hallan sustancias que afectan la unión y transformación de sustratos a productos, entre las que se incluyen a los inhibidores de tripsina, quimotripsina, amilasa, etc (Whetaker y Feeney, 1973; Mitjavila, 1990).

El efecto de los inhibidores de tripsina sobre el páncreas ha sido objeto de numerosos estudios que ponen en evidencia una hipertrofia de

este órgano y un aumento de la actividad proteolítica, mientras que la actividad lipasa y amilasa quedan inalteradas. Esta estimulación pancreática depende de la colecistoquinina-pancreozimina. La liberación de la cuál es inducida por la disminución de los niveles de enzimas proteolíticas libres presentes en la luz intestinal, debida a la formación de complejos enzima-inhibidor irreversibles. La hipertrofia pancreática en respuesta a los agentes antitripsicos es muy variable según la especie animal; el hombre es una especie con respuesta baja. Por otro lado, parece muy poco probable que en condiciones de alimentación normales, las cantidades de inhibidores ingeridas sean suficientes como para provocar una respuesta pancreática importante (Mitjavila, 1990).

Los efectos de las leguminosas crudas sobre el crecimiento son sobre todo visibles en el animal joven o en caso de administración de tasas bajas de proteínas.

Este fenómeno puede atribuirse a la presencia de inhibidores de tripsina, lo que se explica por la hipótesis de Melnik y col. (1946) que sugiere que la metionina (en el caso de la soya) se libera más lentamente por las enzimas proteolíticas del intestino que los otros aminoácidos esenciales, por lo que es insuficientemente utilizada en la síntesis de proteínas. Sin embargo, estudios "in vitro" no apoyan esta teoría y han demostrado que el inhibidor de tripsina no retarda específicamente la liberación de metionina, pero podría afectar a todos los aminoácidos en el mismo grado (Liener, 1972; Liener y Kakade, 1980).

Se cree que la depresión del crecimiento causada por el inhibidor de tripsina es pequeña para poder causar la inhibición de la proteólisis intestinal (Liener y Kakade, 1980). Actualmente se admite que estos factores disminuyen el crecimiento, impidiendo la proteólisis digestiva, aumentando por tanto las pérdidas de nitrógeno en las heces. Sin embargo, se ha demostrado con bastante seguridad que este nitrógeno fecal no es únicamente de origen alimentario, sino que una buena parte proviene de la estimulación de la secreción pancreática (Mitjavila, 1990).

En las leguminosas, los inhibidores de tripsina que han podido ser estudiados se han clasificado en dos categorías: aquellos que tienen pesos moleculares de 20,000-25,000 con relativamente pocos enlaces disulfuro y actividad especialmente dirigida a la tripsina y otros cuyos pesos moleculares van de 6,000-10.000 con una alta proporción de enlaces disulfuro y capaces de inhibir tanto a la tripsina como a la quimotripsina (Liener y Kakade, 1980).

Los efectos tóxicos del frijol pueden ser parcial o totalmente eliminados por métodos apropiados de cocción. El grado de destrucción del inhibidor de tripsina por el calentamiento es función de la temperatura, duración del tratamiento, tamaño de partícula y condiciones de humedad (Liener y Kakade, 1980; Bonilla y col., 1990). En general se ha observado que el inhibidor de tripsina se destruye casi totalmente en autoclave a una presión de 103.4 kPa por un tiempo de 5-20 min. Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que alrededor del 80% de la actividad antitripsina desaparece a los 9 minutos de cocción en condiciones de autoclave y sin remojo (Bonilla y col., 1990).

3.3.2 HEMAGLUTININAS

Las lectinas o hemaglutininas son proteínas que se caracterizan por tener una gran afinidad hacia los residuos glucosídicos presentes en la superficie de los glóbulos rojos. Por otro lado esta afinidad está asociada a una gran especificidad según la fuente vegetal; propiedad que se utiliza para diferenciar los grupos sanguíneos humanos y que queda reflejada en su nombre "lectinas" (del latín "legere" elegir) (Jaffé, 1980; Mitjavila, 1990).

La única característica en común de las hemaglutininas de origen vegetal es que todas son proteínas, muchas poseen enlaces covalentes con azúcares por lo que pueden denominarse glucoproteínas. En 1973, Mialonier y col. encontraron que las lectinas del frijol se localizan en el citoplasma del cotiledón y el embrión; que aparecen durante la maduración y desaparecen durante la germinación.

Algunas de las funciones que se cree tienen dentro de la planta son las siguientes: (a) actúan como anticuerpos contra algunas bacterias, (b) protegen a la planta de ataques fúngicos, (c) atacan enzimas glucoproteicas por medio de un sistema multienzimático bien organizado, (d) ejercen cierta función en el desarrollo y diferenciación de células embrionarias y (e) transportan o almacenan azúcares (Liener y Kakade, 1980).

En estudios realizados con ratas alimentadas con una dieta a base de frijol se observó una disminución en el crecimiento y, ocasionalmente, la

muerte. Sin embargo, se ha podido determinar que no todas las lectinas son tóxicas, sino que su toxicidad varía de acuerdo a la especie animal. Los efectos de las lectinas sobre el crecimiento se manifiestan principalmente por una disminución de la utilización de nitrógeno, de la vitamina B₁₂ y de las calorías de la dieta (Mitjavila, 1990). Actualmente puede determinarse que los efectos sobre el crecimiento son totalmente independientes de los producidos por otros inhibidores como las antitripsinas presentes en las leguminosas. En cambio, en ningún caso se ha podido evidenciar una actividad hemaglutinante después de una administración oral de lectinas (Mitjavila, 1990).

Se sabe que su actividad tóxica puede eliminarse por métodos tradicionales de cocción. Algunos autores mencionan la necesidad de remojar las semillas antes de cocerlas (Jaffé, 1980). Sin embargo, otros han reportado una actividad residual del 1% después de 10 min de cocción en condiciones ambientales sin necesidad de remojo (Bonilla y col., 1990).

3.3.3 GLUCOSIDOS CIANOGENICOS

Es conocido desde hace mucho tiempo que ciertas leguminosas tales como el frijol lima, y habas son potencialmente tóxicas porque contienen glucósidos cianogénicos, ya que el HCN puede ser liberado por hidrólisis de una enzima presente en el tejido de la semilla, liberándose además glucosa y acetona (Montgomery, 1980).

La toxicidad de estos compuestos es bien conocida; el HCN producido es un potente inhibidor respiratorio además de ejercer una actividad antitiroidea. El sitio del inhibidor es la enzima citocromo oxidasa de la catálisis respiratoria terminal de organismos aerobios. Si las dosis son elevadas se produce la muerte como resultado de la anoxia; en el caso de que las dosis no sean fatales, la inhibición de la respiración celular puede ser reversible, eliminándose el CN^- por un proceso de desintoxicación metabólica (Conn, 1973; Valle, 1986; Montgomery, 1980).

3.3.4 FACTORES ANTIVITAMINICOS

Se define a los factores antivitaminicos como una clase especial dentro de los diferentes metabolitos, siendo los compuestos que disminuyen o anulan el efecto de una vitamina en una manera específica (Valle, 1986).

En los frijoles comunes (Phaseolus vulgaris) se han encontrado algunas sustancias con actividad antivitamina E, las que producen necrosis del hígado y distrofia muscular; se sabe también de cierta actividad antitiamina y antivitamina B₁₂. Sin embargo, los efectos producidos por estos factores tóxicos pueden ser eliminados por tratamiento térmico (Liener y Kakade, 1980).

3.3.5 ACIDO FITICO

El ácido fítico es el éter hexafosfórico del ciclohexanol (ácido inositol hexafosfórico). La presencia de grupos ácidos en su molécula facilita la formación de diversas sales. Debido a su actividad quelante

con iones metálicos di- y trivalentes como calcio, magnesio, zinc, cobre y hierro puede formar complejos poco solubles. El ácido fítico se encuentra en concentraciones del orden de 2 a 5 g/kg en los cereales, leguminosas y oleaginosas (Mitjavila, 1990).

Por tratamientos con ácidos y calor o por acción de una enzima, la fitasa o fosfatasa presente en los alimentos ricos en ácido fítico, se hidroliza liberando inositol y ácido fosfórico. Esta fitasa presenta una actividad máxima a pH de 5.5 y a 60°C. La cocción inhibe rápidamente a la enzima e impide la hidrólisis.

Para el hombre, el ácido fítico se considera como una mala fuente de fosfato, porque no se libera o porque se encuentra en forma de sales insolubles de calcio y magnesio. Por otro lado, el ácido fítico aumenta la pérdida fecal de calcio y contribuye a la descalcificación del organismo, incluso con un aporte normal de calcio y vitamina D. También puede quedar fuertemente reducida la utilización digestiva de oligoelementos (Cu, Zn, Mg, Fe) debido a la presencia de ácido fítico (Liener y Kakade, 1980; Mitjavila, 1990; Tabekhia y Luh, 1980). El ácido fítico también ha sido relacionado a la baja digestión de almidones y, debido a la formación de complejos con proteínas y/o péptidos, a una baja digestibilidad de las proteínas (Serraino y col., 1985).

3.4 CULTIVO Y PRODUCCION

En todos los estados del país se siembra y cosecha frijol en mayor o menor grado, siendo los estados de Jalisco, Nayarit, Sinaloa, Veracruz, Guanajuato, Chiapas, Coahuila y Baja California Sur los mayores productores. A continuación se presenta el cuadro 3-1 con la producción total nacional y rendimiento del frijol durante los últimos años.

CUADRO 1 PRODUCCION TOTAL NACIONAL Y RENDIMIENTO DEL FRIJOL (INEGI; 1990, 1992)

AÑO	TOTAL NACIONAL (T)	RENDIMIENTO (T/h)
1982	1 581 000	0.597
1983	1 996 408	0.642
1984	1 679 426	0.554
1985	1 782 341	0.512
1986	1 084 830	0.596
1987	1 023 575	0.573
1988	857 187	0.440
1989	585 952	0.450
1990	2 094 017	0.615
1991*	1 970 460	0.563
1992*	1 996 598	0.613
1993*	1 670 967	0.520

*Valores estimados, no oficiales. El sector alimentario.

3.5 MANEJO POST-COSECHA

Una vez que se cosecha el grano, sigue un proceso que consta de varios pasos antes de llegar al consumidor. A este conjunto de etapas se le conoce como *manejo post-cosecha*. Es precisamente éste el responsable del grado final de deterioro que sufre el grano. La severidad de las pérdidas en cada etapa es variable, siendo el almacenamiento donde existen las pérdidas más importantes.

Las pérdidas post-cosecha pueden originarse por dos causas, las endógenas y las exógenas. Las primeras son aquellas debidas al proceso natural de maduración y las segundas se refieren a influencias externas tales como alteraciones físicas, ataque de animales, contaminación microbiana y química además de malos sistemas de almacenamiento (Bressani, 1982; Moreno y col., 1986; de León y col., 1989).

Dadas las condiciones climatológicas de nuestro país, durante el almacenamiento, el grano está expuesto a factores físicos adversos, como son humedad y temperatura altas, lo que provoca la pérdida de calidad del grano y que, en este caso particular, se conoce como endurecimiento del grano en almacén.

3.6 PROCESO DE ENDURECIMIENTO

El fenómeno de endurecimiento del frijol se traduce en un aumento en el tiempo requerido para suavizar el grano durante el proceso de cocción y algunas veces en un deterioro en las características sensoriales del

producto, tales como olor y sabor. A pesar de que este problema ha sido reconocido desde hace mucho tiempo, los esfuerzos por conocer las causas y el mecanismo de este fenómeno son bastante recientes.

Con respecto a las causas o factores que originan el endurecimiento del frijol son, en orden de prioridad: humedad y temperatura del grano, humedad relativa de almacenamiento y temperatura de almacenamiento.

Los más importantes son la humedad del grano, seguida de la temperatura de almacenamiento (Elías, 1982; Moscoso, 1982; González-de-Mejía, 1982; Moreno y col., 1986; Bressani, 1989). De acuerdo con las investigaciones realizadas hasta la fecha existen dos teorías bastante extendidas sobre los efectos del endurecimiento del frijol. La primera señala a la capacidad de absorción de agua del grano durante el remojo y al tiempo de cocción como los factores más importantes; la segunda involucra cambios estructurales de tipo bioquímico que pueden correlacionarse con reacciones químicas específicas. Por otra parte, se han podido identificar dos problemas como los causantes de la pérdida de la propiedad de ablandamiento de los frijoles. Estos se describen a continuación:

A) Cáscara dura o impermeabilidad de la cáscara al agua. Los granos afectados por este problema sufren una rehidratación lenta, lo que afecta las propiedades de cocimiento y germinación de la semilla (Molina y col., 1976; Moscoso, 1982; Hincke y Stanley, 1987; García-Vela y Stanley, 1989; de León y col., 1989).

B) Esclerema. Se considera como la impermeabilidad de los cotiledones al agua debido a cambios enzimáticos que ocurren durante el almacenamiento. Aparentemente el grano presenta un grado de rehidratación normal sin embargo, el agua se encuentra entre la testa y los cotiledones (Moscoso, 1982; Hincks y Stanley, 1987; García-Vela y Stanley, 1989; Jackson y Varriano-Marston, 1981; de Laón y col., 1989).

Sobre este punto es necesario aclarar que el término "capacidad de absorción de agua" debe analizarse bajo dos aspectos. El primero se refiere a la facilidad de penetración de agua a través de la cáscara o testa y el segundo se relaciona a la capacidad de penetración y difusión uniforme del agua a través del cotiledón. A este respecto, el grosor y la textura de la testa, tamaño del hilio así como la forma y tamaño del micrópilo son responsables de la penetración de agua. Una cáscara fina, un hilio y un micrópilo grandes favorecen la rápida absorción de agua (Varriano-Marston y Jackson, 1981; Elías, 1982).

Algunos estudios realizados para establecer este hecho demostraron que, en los primeros dos meses de almacenamiento, el factor que más afectó a la dureza fue la capacidad de absorción de agua seguida de cambios químicos, tales como el contenido de taninos y proteínas. En los siguientes dos meses, los cambios en el contenido de proteína se convirtieron en la causa más importante. Finalmente, a los seis meses de almacenamiento, el contenido de taninos fue el factor determinante (Moscoso, 1982; Elías, 1982). De lo anterior, se puede pensar que el tamaño del grano, porcentaje de cáscara, contenidos de taninos y proteínas son factores fisicoquímicos que afectan la capacidad de

absorción de agua (Moscoso, 1982; Elías, 1982; Bressani, 1982; Bressani y col., 1981; Hincks y Stanley, 1987; García-Vela y Stanley, 1989).

En el frijol endurecido, gran parte del agua de remojo se queda entre la testa y los cotiledones; en contraparte, en el frijol suave no se presentan problemas para absorber agua. Sin embargo, Burr (1973), Varriano-Marston y Jackson (1981) y Elías (1982) observaron que los frijoles endurecidos, así como el frijol suave embeben agua con la misma rapidez. De lo anterior, podría pensarse que la capacidad de absorción de agua juega un papel importante en la textura del grano durante su cocción. Sin embargo, esto no es así, puesto que algunos autores solo la relacionan en la parte inicial del proceso de cocción, ya que la textura del grano estará dada por la combinación agua-calor sobre determinados componentes.

Otro de los mecanismos relacionados al proceso de endurecimiento se refiere a los polifenoles; pigmentos que caracterizan a la semilla y que se localizan en la testa. Algunos estudios sugieren una posible relación entre el contenido de polifenoles y el proceso de desarrollo de dureza del frijol durante el almacenamiento. El contenido de polifenoles expresado como catequinas disminuye conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. El descenso va acompañado de un incremento en la actividad de la polifenol-oxidasa, de la dureza y del tiempo de cocción del grano (Elías, 1982; González-de-Mejía, 1982; Bressani y col., 1981; de León y col., 1989).

Aunque bioquímicamente es fácil suponer y esperar que, bajo las condiciones de almacenamiento, opere un mecanismo enzimático que explique la disminución de la catequina, no se dispone todavía de una explicación categórica que pueda explicar este fenómeno. Con base en lo anterior podría suponerse un efecto adverso en la estructura de la testa, ya que ésta contiene la totalidad de los pigmentos, dicho efecto se reflejaría en la capacidad de absorción de agua ya que la cáscara es la primera barrera para la penetración de agua, fenómeno comprobado por de León y col., (1989). Otra posibilidad se relaciona a la probable polimerización de los fenoles por acción de la polifenol-oxidasa (González-de-Mejía, 1982) y una explicación más se refiere a la probable formación de complejos proteínicos con compuestos fenólicos (Elías, 1982; de León y col., 1989).

Otros autores postulan que los polifenoles pueden estar relacionados con la dureza de la semilla y el tiempo de cocción mediante dos mecanismos: (a) el de la polimerización activa principalmente en la testa y (b) el de la proteína lignificada (Varriano-Marston y Jackson, 1981; Elías, 1982; de León y col., 1989). El proceso de endurecimiento también se ha atribuido a cambios en otras sustancias, las que pueden incidir en la macro y micro estructura del cotiledón. Dichos cambios se basan principalmente en los constituyentes del cotiledón, como son: almidón, proteína, lípidos y, desde el punto de vista estructural, la pared celular y la lamela media. La pared celular está formada, sobre todo, de celulosa embebida en una matriz formada principalmente de hemicelulosa y sustancias pécticas (Elías, 1982; de León y col., 1989).

La lamela media es la estructura que mantiene a las células individuales juntas. Consiste en su mayoría de sales de calcio de polímeros de ácido galactourónico que han sido parcialmente esterificadas con metanol. En las primeras fases del proceso de cocción, la lamela media es el principal constituyente que se suaviza y, posteriormente, empieza la gelatinización de los gránulos de almidón dependiendo del tiempo y temperatura

Durante la cocción, el ablandamiento de la semilla se debe a la reacción de fitatos con pectatos insolubles de calcio y magnesio que contiene la pared celular, transformándolos en pectatos solubles de sodio y potasio (Kon, 1979). La presencia de sales de sodio en la solución de remojo combinada con los efectos quelantes de los fosfatos reducen drásticamente los tiempos de remojo y cocción (Silva y col., 1981).

El papel del ácido fítico y de los fitatos sobre la textura de la semilla se debe probablemente a que estos representan la principal forma de fósforo en los granos y que éste reacciona con los pectatos formando compuestos proteína-fitato. Moscoso y col (1984), de León y col. (1989) encontraron una relación entre la calidad de cocción, contenido de ácido fítico y calcio, confirmando el hecho de que el endurecimiento en almacén se debe al descenso en el contenido de ácido fítico y de alteraciones de algunos cationes mono y divalentes en el tejido.

El fenómeno de dureza puede deberse a la reducción de solubilidad de las pectinas en la lamela media o a la disminución en el valor de imbibición al reducirse la presión de turgencia, haciendo que baje la

fuerza de cohesión entre las células o ambos factores combinados en diferentes grados (Jones y Boulter, 1983; Moscoso y col., 1984). El mecanismo de reducción de la solubilidad de la pectina se cree que se debe a un rompimiento de la fitina, liberando calcio y magnesio que se unen a las pectinas de la lamela media, haciéndolas insolubles, lo que se facilita por la desmetilación de las pectinas que aumenta el número de carbonilos libres.

Por lo tanto, el incremento en el contenido de humedad debido a una alta humedad relativa en almacén constituye uno de los factores claves en el inicio del endurecimiento del frijol, restringiendo el metabolismo e iniciándose el rompimiento de membranas celulares que causan pérdidas o merma de solutos y bajos valores de imbibición permitiendo el acceso de cationes divalentes de la fitina hidrolizada a las pectinas (Jones y Boulter, 1983; Moscoso y col., 1984).

Finalmente, se ha tratado de relacionar la composición de los lípidos con el tiempo de cocción de frijol común sin que se haya podido demostrar alguna relación. El razonamiento que respalda esta posibilidad radica en el hecho de que aún cuando la mayoría de las leguminosas acusen un bajo contenido de lípidos totales, en la composición de estos predominan los ácidos grasos insaturados y, en consecuencia, existe una mayor posibilidad de oxidación.

El frijol endurecido durante el almacenaje a menudo presenta un deterioro en sabor a causa de un proceso hidrolítico y oxidativo que actúa sobre estos ácidos grasos. Se sabe que este mecanismo de oxidación

puede seguir un proceso de polimerización, afectando en esta forma la permeabilidad del cotiledón a la penetración de agua.

Por otra parte, se ha podido establecer que el almacenamiento ocasiona un detrimento en la calidad proteínica del frijol, independientemente del tiempo de almacén. De allí la importancia de encontrar nuevas alternativas de aplicación del frijol endurecido.

3.7 EXTRUSION

La extrusión de alimentos es un proceso en el cual un material alimenticio granular es forzado a fluir por medio de un tornillo sinfín bajo una o más condiciones de mezclado, calentamiento y esfuerzo a través de una boquilla o dado que está diseñado para dar forma, secar y expandir el producto extrudido (Rossen y Miller, 1973; Anon., 1989). La extrusión se ha convertido en uno de los procesos más importantes en la elaboración de alimentos procesados. Se le puede aplicar en diferentes funciones que incluyen mezclado, cocinado, inflado, secado, moldeado, etc.; dependiendo del extrusor y de las condiciones de proceso. El cocinado por extrusión es un método extraordinariamente versátil, con una gran capacidad de producción, además de abarcar un amplio campo de utilización como son pastas, cereales para desayuno, bollos, bizcochos, alimentos para bebé, pan tostado, galletas saladas, bocadillos, productos de confitería, texturizado de proteínas vegetales, alimentos para mascotas, sopas secas, bebidas en polvo, etc. (Anon., 1989; Pak y Araya, 1981; Sanderude y Ziemba, 1968).

El proceso se controla por medio de diferentes condiciones de operación, es un buen convertidor de energía eléctrica en térmica y tiene buenas características como proceso de secado. Los principales elementos de un extrusor, así como las zonas del mismo, se muestran en las figuras 3-1 y 2.

FIGURA 3-1. ELEMENTOS DE UN EXTRUSOR DE UN SOLO TORNILLO (Guerra, 1978)

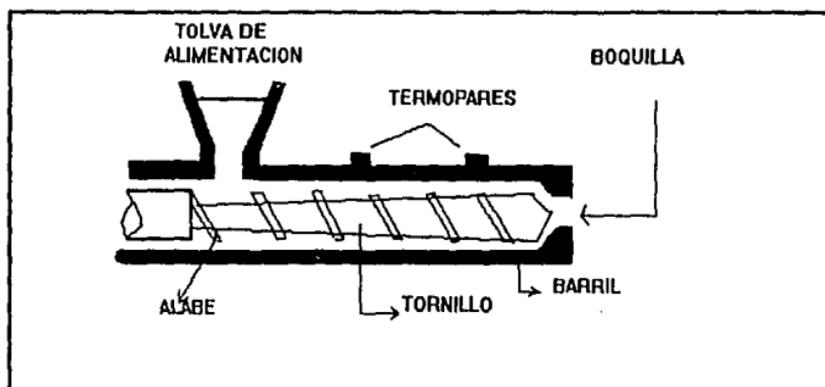
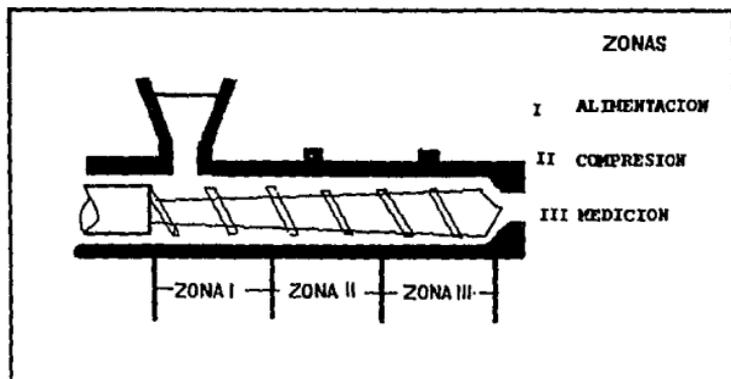


FIGURA 3-2. ZONAS DEL EXTRUSOR (Guerra, 1978)



3.7.1 PROCESO DE EXTRUSION

Los extrusores de cocción normalmente emplean un tornillo para alimentar, cocer y transportar el material alimenticio (este último es básicamente un almidón de maíz, trigo o arroz previamente desgrasados o materiales con un alto contenido de proteínas como la soya desgrasada). El material alimenticio, usualmente en forma granular o de harina, se alimenta inicialmente en una cámara preacondicionadora, donde se trata con agua o con vapor para proporcionarle el contenido de humedad indicado para la extrusión. Esto mejora el sabor y textura del producto terminado y reduce los costos de operación (Harmann y Harper, 1974; Rossen y

Miller, 1973; Huber, 1991; Hauck, 1988; Anon., 1989). Así es como el material preacondicionado cae en la sección de alimentación donde grandes transportadores lo llevan a la tolva del extrusor y comienza el trabajo de mezclado para formar una masa uniforme. En la sección de alimentación, generalmente, el tornillo tiene profundas acanaladuras que favorecen el mezclado de ingredientes. En este punto es posible inyectar agua para ayudar a la formación de una masa homogénea y para incrementar la transferencia de calor en el barril del extrusor (Harmann y Harper, 1974; Rossen y Miller, 1973; Anon., 1989).

Al pasar a la sección de transición el trabajo de mezclado es más completo y se obtiene una masa precocida con una elevada temperatura (121°C hasta arriba de 200°C); en esta sección las acanaladuras son menos profundas y se aplica compresión y energía térmica. En la última zona la masa sufre una cocción adicional y, probablemente, su estructura se altere por la presencia de grandes fuerzas cortantes. La temperatura del material aumenta rápidamente hasta llegar a un máximo que dura menos de 5 segundos antes de que el producto sea forzado a pasar a través de la boquilla o dado (Harper, 1978; Anon., 1989).

Conforme la masa pasa a través de la boquilla sufre una diferencia de presión, lo que ocasiona que el producto se expanda como resultado de la vaporización. El enfriamiento ocasiona una pequeña disminución en el volumen de la masa expandida (Harmann y Harper, 1974; Harper, 1978; Anon., 1989).

El producto extrudido puede pasar a través de un secador para reducir su contenido de humedad. La energía necesaria para cocer la pasta proviene de una disipación viscosa de la energía mecánica aplicada por medio del tornillo. La energía térmica adicional puede aplicarse por calentamiento externo del extrusor. Las altas temperaturas generadas por toda la energía existente no ocasionan pérdidas considerables en el contenido de humedad gracias a la presencia de presión dentro del extrusor.

El incremento en la presión se debe a los cambios en la geometría del tornillo y a la resistencia al flujo que ocasiona la boquilla (Harmann y Harper, 1974; Sellar, 1989). La configuración del dado o boquilla puede ser designada con anterioridad para dar al producto extrudido la forma que se desee (Uebersax y col., 1991).

3.7.2 VENTAJAS DEL PROCESO DE EXTRUSION

La rápida aceptación de la extrusión de alimentos como un proceso importante en la producción de una gran variedad de productos, se debe a que tiene muchas ventajas.

La extrusión logra una alta productividad en un proceso simple en el que, en un solo paso se lleva a cabo la cocción y moldeado del producto. Asimismo, incrementa la efectividad de costo del proceso. La habilidad de los extrusores para manejar una variedad de ingredientes, en donde las condiciones del proceso aseguran su versatilidad y, consecuentemente, su aplicabilidad a un sinnúmero de productos alimenticios, lo constituye como

una tecnología importante en la elaboración de alimentos industrializados (Seller, 1989).

La capacidad de generar altas temperaturas de proceso en un corto tiempo de residencia se ha denominado extrusión HTST (cuyas siglas en inglés significan High temperature/Short time).

Este proceso se puede aplicar en alimentos que requieren tratamientos con calor (Mustakas y col., 1970; Anon., 1974; Anon., 1989; Smith, 1975); para desnaturalizar enzimas que causan rancidez o cualquier otro deterioro en los alimentos, inactivar factores antifisiológicos como los inhibidores de tripsina y destruir microorganismos presentes en el material alimenticio, para obtener un producto estéril, etc.

La precocción de productos alimenticios por la extrusión HTST puede conducir a mejorar la digestibilidad de los constituyentes del alimento por medio de la gelatinización de almidones o por tratamiento térmico de proteínas; mientras minimiza las reacciones nocivas como la pérdida de lisina disponible por una reacción con azúcares reductores en una reacción de oscurecimiento o la reducción en la actividad de las vitaminas.

La propiedad de los extrusores para dar forma y textura a los constituyentes alimenticios es una de las razones más importantes por las que el proceso ha tenido una gran aceptación. Las características de inflado y calidad crujiente ("crunch") en los cereales para desayuno y en las botanas son un claro ejemplo.

Otra área de aplicación de la extrusión de alimentos es en la texturización de proteínas vegetales para poder producir una estructura semejante a las fibras musculares de la carne.

Muchos alimentos se producen por extrusión, como por ejemplo, productos texturizados de proteína de soya, botanas, cereales para desayuno y sopas secas. En este proceso, el almidón humedecido y/o productos proteínicos son plastificados en un tubo por medio de una combinación de calor, presión y corte mecánico. Durante el proceso se producen los siguientes efectos:

- Gelatinización de los componentes amiláceos para incrementar sus propiedades funcionales.
- Desnaturalización de proteínas, inactivación de inhibidores del crecimiento en leguminosas y pasteurización de los materiales de proceso.
- Reestructuración de los componentes retráctiles, moldeado y corte del producto terminado.
- Expansión del producto extrudido.

Es posible además procesar mezclas de varios ingredientes en los que se incluyan alimentos ricos en grasa, como por ejemplo nueces, así como harinas de cereales o de carne (pescado). Y si así se requiere, se pueden emplear mezclas de cereal y otros alimentos ricos en proteínas ya sean de origen animal o vegetal, se puede añadir a la mezcla una gran variedad de

ingredientes como grasa, color, sabor artificial y suplementarla con minerales y vitaminas.

El proceso permite obtener diferentes texturas y densidades en el producto. La textura está determinada por la estructura del producto expandido. La talla de la célula de expansión del producto puede ser larga, corta o una media entre estos extremos dependiendo de los materiales procesados. La presión también determina la estructura de la célula de expansión y, por tanto, la textura del producto expandido. Cuando se conjuga la extrusión con el contenido de humedad del material a procesar se pueden obtener productos porosos, y de larga vida de anaquel incluso si son empacados.

Todas estas condiciones hacen del proceso de extrusión una alternativa interesante en la producción de alimentos precocidos o listos para servir.

Aún cuando el uso de los extrusores está asociado a la producción de una amplia variedad de productos alimenticios, también es posible aplicar esta técnica en operaciones completamente diferentes, relacionadas o no con los alimentos, como en reactores químicos, esterilizadores y bioreactores (Linko y col., 1983; Bouille, 1987).

En el siguiente capítulo se presenta el diseño experimental seguido en este trabajo para estudiar la extrusión de frijol endurecido.

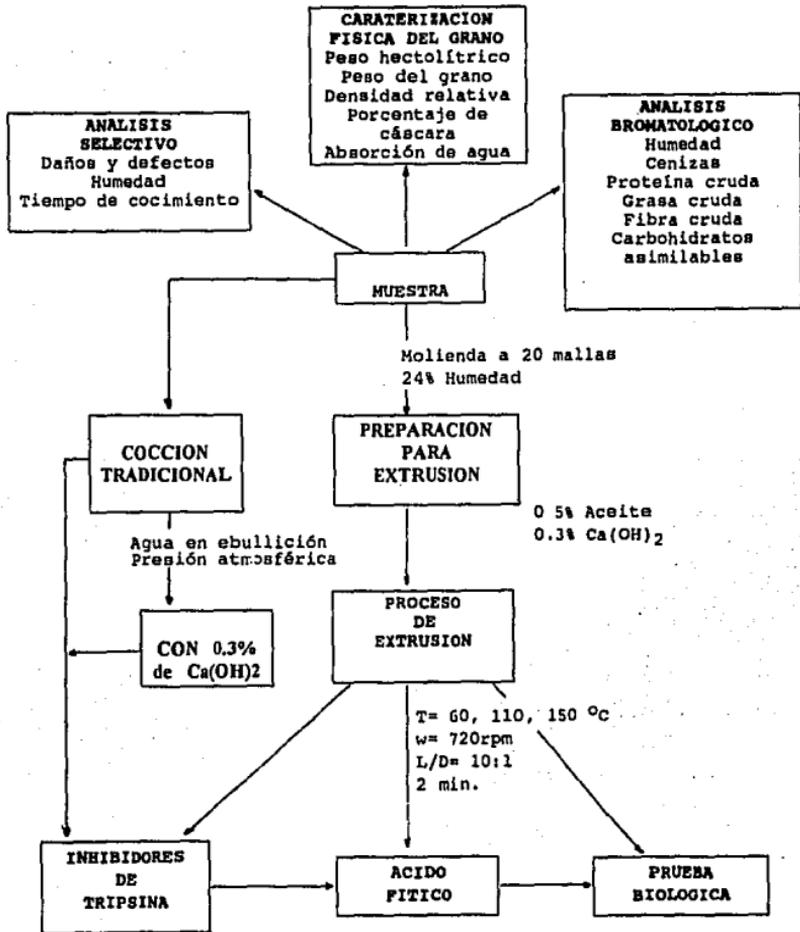
IV. DISEÑO EXPERIMENTAL

La presente investigación se realizó con un lote de frijol de procedencia desconocida ya que se adquirió en una de las bodegas de la "Central de abastos" de la Ciudad de México, D.F., de la variedad "ojo de cabra", ya que se ha podido establecer que es altamente susceptible al endurecimiento,

El tamaño del lote fue de 30 kg de muestra suave aproximadamente. El lote, sobre el cual se realizó un análisis selectivo tomando una muestra para realizar la caracterización física del grano y el análisis bromatológico (diagrama 4-1), fue debidamente mezclado y almacenado bajo condiciones de 75% de humedad relativa y 60°C durante 40 días ya que son las más drásticas para producir el endurecimiento.

El frijol fue analizado y caracterizado física y químicamente en las instalaciones de la Facultad de Química de la UNAM, edificio B, laboratorio 202. El proceso de extrusión se realizó en las instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

DIAGRAMA 4-1 METODOLOGIA



4.1 ESQUEMA DE LA METODOLOGIA

El diagrama 4-1 muestra esquemáticamente la metodología seguida en el presente trabajo, misma que se inicia con el análisis selectivo del grano, antes y después de someterlo al proceso de endurecimiento.

4.2 ANALISIS SELECTIVO

Este análisis se realizó con un muestra representativa para seleccionar las semillas que presentan daños y defectos. Se considera semilla defectuosa aquella con alteraciones en su constitución normal, aunque así sea consumida. Son defectuosas las semillas ampolladas, manchadas y quebradas. Por otra parte, la semilla dañada es la que ha sufrido alteraciones en su apariencia original por calentamiento, factores climatológicos, germinación, insectos, microorganismos y roedores.

Este análisis se realizó en el lote de grano total y se siguieron las técnicas que se citan a continuación:

DETERMINACION	REFERENCIA
Daños y defectos	DGN-F-362-1967 y NOM-FF-38-1982**
Humedad	DGN-F-362-1988 y NOM-FF-38-1982**
Tiempo de cocción	Elías y col., 1986
** N.O.M. (1982)	

4.3 CARACTERIZACION FISICA

El objetivo de este ensayo es conocer las características morfológicas y pruebas que determinan la calidad del grano. Esta caracterización está constituida por las determinaciones de peso hectolítrico, peso del grano, densidad relativa, porcentaje de cáscara, absorción de agua.

A continuación se dan las referencias de las técnicas utilizadas durante la caracterización del grano.

DETERMINACION	REFERENCIA
Peso hectolítrico	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985
Peso del grano	S:A:R:H./I.N.I.A., Td-17, 1985
Densidad relativa	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985
Porcentaje de cáscara	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985
Absorción de agua	Elías y col., 1986,

S.A.R.H. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, comunicación personal.

I.N.I.A. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, comunicación personal.

4.4 ANALISIS BROMATOLOGICO

Este análisis está constituido por una marcha analítica que permite cuantificar de forma aproximada cuatro de los cinco grupos de nutrimentos o componentes que constituyen un alimento. Estos son humedad, cenizas, proteína y grasas. Los carbohidratos se pueden calcular por diferencia.

Para este análisis se siguieron las técnicas recomendadas por la A.O.A.C. y cuyas referencias se dan a continuación (AOAC, 1990).

DETERMINACION	REFERENCIA
Humedad	A.O.A.C., Proc. 930.15
Cenizas	A.O.A.C., Proc. 942.05
Proteína cruda	A.O.A.C., Proc. 954.01
Grasa cruda	A.O.A.C., Proc. 920.39C
Fibra cruda	A.O.A.C., Proc. 962.09

4.5 PROCESO DE EXTRUSION

Antes de someter el frijol a extrusión se limpió de cualquier materia extraña y se almacenó bajo condiciones de 75% de humedad relativa y 60°C durante cuarenta días. Transcurrido este periodo de tiempo, se molió el grano en un molino CECOCO y se tamizó hasta obtener una harina que pasaba por la malla 20.

A la harina anteriormente obtenida se le ajustó el contenido de humedad a 24% con ayuda de un aspersor y se homogeneizó perfectamente con un mezclador de polvos en forma cúbica construido para el laboratorio del Departamento de Alimentos y Biotecnología. Ya acondicionada, se obtuvieron muestras de 2 kg a las que se les adicionó 5% (p/p) de aceite comestible comercial, cuya función era facilitar el tránsito del material a extrudir a través del tornillo sinfín. A una de las muestras se le adicionó 0.3 % (p/p) de hidróxido de calcio; se homogeneizó muy bien con ayuda de un mezclador de polvos. Las harinas, posteriormente, se guardaron en refrigeración (4°C) en bolsas de polietileno selladas hasta ser sometidas a extrusión.

Las condiciones en que se efectuó el proceso de extrusión son las siguientes: velocidad del tornillo de 720 r.p.m., temperatura en las tres secciones del barril (alimentación, transición y extrusión) de 60°C, 110°C y 150°C, respectivamente, tiempo de residencia de 2 minutos medidos desde la alimentación hasta la salida del producto a través de la boquilla del extrusor. Esta operación se realizó en un extrusor Wenger X-5, el cual está equipado con un barril dividido en 7 secciones y un sistema

externo de intercambio de calor, que consiste en hacer fluir agua caliente y fría alrededor del barril para controlar las temperaturas de proceso.

4.6 COCCION TRADICIONAL Y CON ADICION DE $\text{Ca}(\text{OH})_2$

En recipientes con 4 litros de agua en ebullición se adicionaron 2 kg de frijol y se dejó hervir por un período de 6.10 horas para la muestra endurecida y 3.5 horas para la muestra suave, el volumen de agua se mantuvo constante durante el período de cocción por adiciones variables de agua hirviendo. La cocción con adición de hidróxido se hizo de la misma forma agregando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en una concentración de 0.3% (p/p). Para determinar que los granos ya estuvieran cocidos se tomaban muestras cada 15 min y se les presionaba entre los dedos índice y pulgar hasta que tomaran una textura arenosa.

4.7 DETERMINACION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA

Esta determinación se hizo con un método colorimétrico, cuyo fundamento se basa en una reacción entre la tripsina y un sustrato sintético (Benzoil-arginina-p-nitroanilida, BAPNA), el que se hidroliza liberando benzoil-arginina y p-nitroanilida de color amarillo. La cuantificación se efectúa a una longitud de onda de 420nm (ver anexo).

Esta determinación se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Kakade y col. (1974).

4.8 DETERMINACION DE ACIDO FITICO

No existe un reactivo específico para determinar el ácido fítico por lo que se determina de una manera indirecta. En este caso particular, se determinó de acuerdo al método descrito por Haug y Lantzsch (1983), con base en una reacción colorimétrica, que permite cuantificar concentraciones de hasta 3 mg/mL de ácido fítico en el extracto. El ácido se precipita con una solución ácida de Fe^{3+} de concentración conocida. El decremento de hierro (determinado colorimétricamente con 2,2'-bipiridina) en el sobrenadante es una medida indirecta del contenido de ácido fítico en la muestra (ver anexo).

4.9 PRUEBA BIOLÓGICA

Para este ensayo biológico se utilizaron ratas blancas, machos, de 21 días de nacidos, recién destetados, con un peso de 40 a 50g obtenidos de la colonia del Bioterio de la Facultad de Química de la UNAM. Se emplearon grupos de seis ratas para cada lote a evaluar. Las ratas se colocaron en jaulas individuales, en un cuarto con una temperatura de 18-21°C y humedad controlada. Los lotes se determinaron de acuerdo al método de culebra (Osborne y col., 1919).

Las ratas se alimentaron con las dietas de prueba y agua en cantidades ad libitum, durante 4 semanas (28 días). Se les alimentaba diariamente, tomando un registro de la cantidad ingerida y se pesaban cada tercer día, las heces no se pesaron.

En forma paralela se trabajó con un grupo de ratas cuya dieta fue a base de caseína, a fin de tener una dieta de referencia o control. Las dietas se prepararon de manera que fueran isoproteicas e isocalóricas.

Las dietas empleadas en este ensayo se prepararon con las muestras extrudidas correspondientes a los tratamientos alcalino (muestra adicionada con hidróxido de calcio) y tradicional (muestra únicamente) y muestras duras cocinadas tradicionalmente con y sin adición de hidróxido de calcio. Para esto, las muestras extrudidas se secaron en un secador de charolas al vacío (J.P. Devine Co.) bajo las siguientes condiciones: presión de vapor (103.4 kPa), vacío de la cámara 20 kgf/cm² y temperatura en el interior de la cámara de 80°C, hasta reducir su contenido de humedad de 18% hasta 10%.

Una vez secas, se procedió a molerlas en un molino CeCoCo tipo SC hasta obtener una harina que pasara por malla 40 y con éstas se prepararon las dietas. El contenido de humedad final era de 10%. Para la preparación de las dietas se consideraron los resultados obtenidos en el análisis proximal para poder hacer los cálculos de acuerdo a un contenido de 10% de proteína en las mismas, para que fueran, como ya se dijo antes, isoproteínicas e isocalóricas y para que proporcionaran los nutrimentos necesarios en las cantidades adecuadas. Los lotes estudiados correspondieron a una muestra cruda y a las muestras extrudidas de frijol endurecido con y sin adición de hidróxido de calcio, frijol endurecido con cocción tradicional, endurecido con adición de 0.3% de hidróxido de calcio durante la cocción tradicional y un lote de referencia de caseína.

Por otra parte, los datos referentes a frijol suave cocido tradicionalmente se obtuvieron de la literatura (Muciño-Raymundo, 1989).

Para la realización de esta prueba se siguieron las recomendaciones sugeridas en la referencia citada N.A.S.N.R.C. (1963). Estas fueron adicionadas en las cantidades especificadas en el Anexo (Cuadro A-1). El contenido de vitaminas y minerales, de acuerdo con el proveedor, se presenta en los Cuadros A-2 y A-3 del Anexo.

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos en este trabajo y se discuten para establecer una estrategia de utilización de este grano artificialmente endurecido.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro 4-1 se muestran los resultados correspondientes al análisis selectivo del grano. Esta determinación tiene como objeto establecer la calidad del grano, siendo posible inferir sobre el trato que ha recibido durante su manejo y almacenamiento.

Una vez que se tamizó la muestra con objeto de cuantificar las impurezas, se encontró que éstas se hallan en cantidad superior a la señalada por la norma (3% p/p). Si se toma esto como un índice de calidad puede pensarse que el grano de estudio tuvo un manejo post-cosecha inadecuado. Esta observación cobra fuerza al analizar el resultado concerniente al grano dañado, ya que también en este aspecto el valor obtenido es mayor al especificado. Esto puede deberse a que la variedad de estudio es poco común y ello explique la falta de atención de que es objeto durante su comercialización, dando como resultado un producto de baja calidad.

El análisis selectivo proporcionó datos sobre los daños y defectos de la semilla. En referencia a la semilla dañada se puede apreciar que el calor es el factor más importante sobre la calidad y que, además, constituye un indicativo de un inadecuado sistema de almacenamiento; el segundo factor determinante de calidad fueron las pérdidas ocasionadas por insectos que en cierta medida guardan relación con un mal almacenaje.

El tercer factor indicativo de calidad lo constituyó el daño causado por los factores climatológicos. Esto habla de que durante su cultivo la

presencia de lluvias, viento, heladas, granizo o cualquier otro factor climático, impidieron que el grano se desarrollara adecuadamente. Al detenerse en los resultados referentes a semilla defectuosa se observa que la semilla quebrada es la que define este renglón, dato que confirma lo que se señaló con anterioridad respecto al manejo post-cosecha. Finalmente se obtuvo un gran porcentaje de semillas de otra variedad. Por todo esto, puede decirse que el grano en estudio tiene una baja calidad en términos de comercialización.

En cuanto a los resultados correspondientes a la caracterización física del grano (cuadro 4-2), se obtuvieron diferencias interesantes entre el grano endurecido y el suave. Primero, el peso del grano (1000 granos) es mayor en el grano suave, lo que indica que el frijol pierde peso durante el período de almacenamiento, que es la etapa en que se desarrolla el endurecimiento del mismo.

Este hecho tiene una repercusión importante en las determinaciones de peso hectolítrico y densidad relativa, ya que éstas están definidas por una relación peso/volumen cuyo cociente depende directamente del peso del grano; esto es, a mayor peso del grano mayor será el cociente que defina la relación.

De acuerdo a los resultados correspondientes al porcentaje de cáscara se aprecia que la muestra endurecida contiene un mayor porcentaje. Esto se podría explicar por la presencia de tres circunstancias particulares desarrolladas durante el proceso de endurecimiento.

CUADRO 4-1. ANALISIS SELECTIVO DEL GRANO

DETERMINACION	PORCENTAJE
Impurezas	3.47 ± 0.54
Grano dañado	6.20 ± 0.40
Semilla defectuosa	5.84 ± 0.36
Otra variedad	37.93 ± 0.63
Grano dañado*	0.84 ± 0.15
Daño por insectos*	9.38 ± 0.50
Factores climatológicos*	8.90 ± 0.12
Daño por calor*	36.24 ± 0.33
Daño por roedores*	1.18 ± 0.23

*Con base en el grano dañado

Estas son (a) la polimerización de fenoles por acción de la polifenol-oxidasa, (b) la posible formación de complejos entre cuerpos proteínicos con compuestos fenólicos ó bien, (c) a un incremento en la fracción de proteína y lamela media lignificadas.

Con base en lo anterior se entiende que el incremento en el porcentaje de cáscara es en realidad un incremento en el grosor de la testa; que a su vez se relaciona directamente con el comportamiento de las muestras durante la absorción de agua.

CUADRO 4-2. CARACTERIZACION FISICA DEL GRANO

DETERMINACION	M U E S T R A	M U E S T R A
	SUAVE	ENDURECIDA
Peso 1000 granos (g)	303.07	299.03
Peso hectolítrico (kg/100L)	82.35	79.50
Densidad relativa (g/mL)	1.72	1.65
Porcentaje de cáscara (p/p)	11.32	12.53
Tiempo de cocción, método tradicional (h)	3.50	6.10
Tiempo de cocción, método tradicional, con adición de 0.3% de cal (h)	2.20	5.40

Con referencia a los resultados de porcentaje de absorción de agua para ambas muestras (suaves y endurecidas) con cáscara, (gráfica 4-1); se observó cierta dificultad por parte de la muestra endurecida a absorber agua al inicio de la prueba, sin embargo, al final de la experiencia no se aprecian diferencias significativas entre ambas muestras. Se puede decir entonces que, tanto la muestra suave como la endurecida embeben agua con la misma rapidez.

Con base en lo anterior y en referencia a la bibliografía (Moscoso, 1982; Hincks y Stanley, 1987; García-Vela y Stanley, 1989; de León y col., 1989), se puede decir que el grano presenta cierta impermeabilidad de la cáscara a embeber agua, fenómeno denominado cáscara dura, que ya

fue descrito anteriormente (3.6.A). Por otra parte se puede decir que la presencia de la condición anterior aunada al grosor de la cáscara afectan a la velocidad de absorción de agua sólo durante las primeras horas de la prueba.

Al comparar los tiempos de cocción de ambas muestras se observó que éste fue mayor en las que presentan la condición de endurecimiento. Con relación a esto, se puede pensar que la impermeabilidad de la cáscara influye sobre el tiempo de cocción, pero no es un factor determinante, ya que anteriormente se mencionó que ambas muestras embeben agua con la misma rapidez.

En el cuadro 4-3 se concentran los resultados correspondientes a los análisis bromatológicos, tanto del grano suave como del endurecido. Algo de lo más relevante de éstos es el decremento en el contenido de humedad del grano endurecido, este aspecto se puede relacionar en cierta forma con la pérdida de peso del grano durante el almacenamiento. Sin embargo, el decremento en los componentes es generalizado excepto en el contenido de fibra cruda.

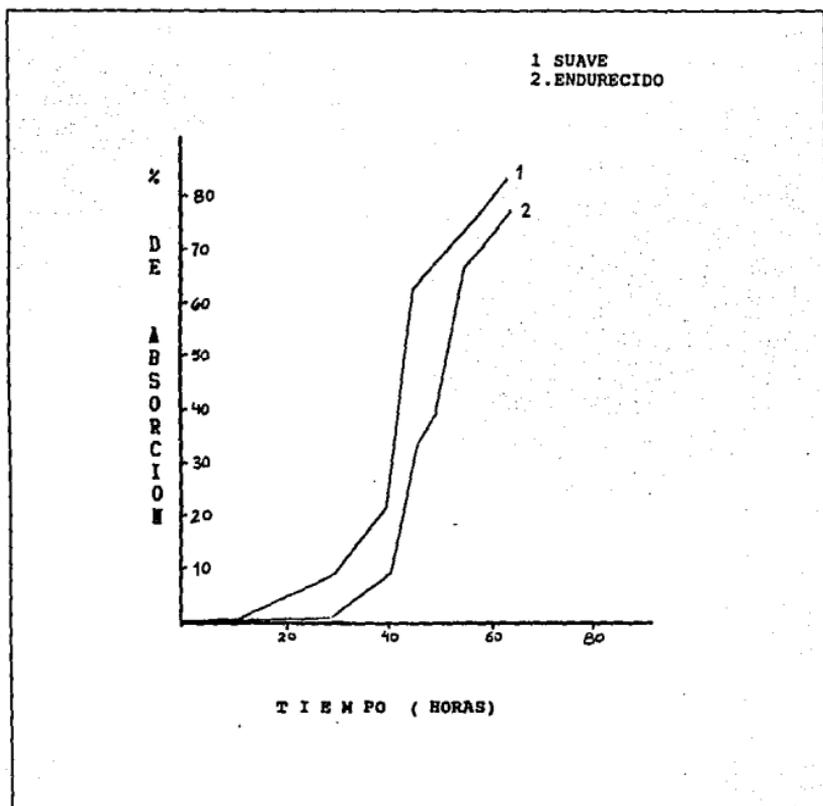
Todas estas diferencias pueden atribuirse a ciertos mecanismos presentes durante el almacenamiento y que involucran a esos componentes. Por ejemplo, en el caso de la proteína, el descenso puede deberse a la presencia de compuestos formados entre ésta con taninos y fitatos ó a procesos de lignificación. Por otra parte, el decremento en el contenido de grasa en la muestra endurecida puede estar relacionado a la presencia de procesos de oxidación, hidrólisis o polimerización. El aumento en el

contenido de fibra cruda se puede relacionar con el descenso de proteína debido a la formación de complejos proteína-fitato (estos últimos presentes principalmente en la testa). Por lo anterior se puede pensar que el endurecimiento sí afecta a la composición química del grano y, especialmente, al contenido de proteína. Durante el endurecimiento se favorece la presencia de reacciones entre éstas y otros componentes del grano, como pueden ser los fitatos presentes principalmente en la cáscara, lo que se traduce en un aumento en el contenido de la misma. Empero, este aumento en el contenido de cáscara no es probablemente el único responsable del aumento en el tiempo de cocción del grano. Esto implica que durante el fenómeno de endurecimiento existen reacciones de tipo bioquímico que afectan al grano e influyen en el tiempo de cocción.

CUADRO 4-3. ANALISIS BROMATOLOGICO

DETERMINACION	FRIJOL	FRIJOL
	SUAVE	ENDURECIDO
Proteína cruda (%)	21.947	21.615
Grasa cruda (%)	2.308	2.011
Cenizas (%)	4.060	4.189
Fibra cruda (%)	4.485	5.693
Carbohidratos asimilables por diferencia (%)	67.198	66.492
Humedad (%)	8.146	7.082

GRAFICA 4-1 ABSORCION DE AGUA EN MUESTRAS SUAVES Y ENDURECIDAS DURANTE EL
REMOJO.



Una vez que se caracterizó el grano tanto física como químicamente se procedió a extrudir únicamente las muestras endurecidas. La operación de extrusión se efectuó, como ya se mencionó, en un extrusor Wenger X-5.

Para determinar el efecto de la cocción por extrusión sobre algunas sustancias tóxicas presentes en el frijol, en este estudio se determinó el contenido de ácido fítico e inhibidores de tripsina antes y después de la operación de extrusión y se compararon con datos correspondientes a muestras endurecidas cocinadas tradicionalmente y con adición de 0.3% de Ca(OH)_2 (Cuadro 4-4).

Los resultados muestran una clara disminución de compuestos tóxicos y esto se hace más evidente en las muestras extrudidas. Al analizar las muestras cocinadas tradicionalmente con y sin adición de cal se observa que la muestra con adición de cal sufre una pérdida mayor de tóxicos, lo cual es benéfico ya que de esta forma se obtiene un producto menos tóxico y probablemente más fácil de asimilar por el organismo.

De lo anterior se puede pensar que el tratamiento térmico alcalino afecta a los componentes químicos del grano. Sin embargo esto no es así puesto que Crail-Chávez (1987), quién como ya se mencionó en la introducción, no encontró cambios importantes en el contenido de éstos, únicamente un aumento en el contenido de minerales debido al hidróxido presente.

Otra observación importante fue el hecho de que el tiempo de cocción entre las muestras cocinadas tradicionalmente fue menor en la que

contenia hidróxido de calcio independientemente de su condición (muestra suave con hidróxido 2.20 y 3.50 h sin hidróxido; muestra dura con hidróxido 5.40 y 6.10 h sin hidróxido), lo que induce a pensar que este compuesto influye sobre la estructura del grano haciéndolo más susceptible al tratamiento térmico. Este efecto también fue observado por Crail-Chávez (1987). Sin embargo, esta disminución en el tiempo de cocción no es comparable con el tiempo empleado en la extrusión.

Los resultados obtenidos sobre la pérdida de compuestos tóxicos, debida al endurecimiento, concuerdan con los de Muciño-Raymundo (1989) y Verdejo y col (1987). Sin embargo, la pérdida de estos compuestos tóxicos no puede traducirse en un producto con mejores características nutricias, por lo que se hace necesario analizar tanto el porcentaje de destrucción de compuestos tóxicos como el valor de REP para poder inferir sobre la calidad nutricia del grano de frijol endurecido aceleradamente.

Por otra parte, al analizar las muestras endurecidas extrudidas se obtuvieron resultados semejantes a los obtenidos en la cocción tradicional, esto es, la muestra con hidróxido de calcio registró un menor contenido de sustancias tóxicas. Una explicación con respecto a la diferencia en la "pérdida" de compuestos tóxicos entre las muestras extrudidas y cocinadas tradicionalmente podría relacionarse a la diferencia de condiciones en que se efectúa el proceso de cocción. Por ejemplo, que el tamaño de partícula aumente el área de transferencia de calor, haciendo que se alcance la temperatura de inactivación más rápidamente y, consecuentemente, esto influya sobre el por ciento de destrucción.

Tanto en lo que se refiere al ácido fítico como al inhibidor de tripsina, se obtuvieron diferencias significativas ($P=0.05$) en el porcentaje de inactivación entre las muestras extrudidas y cocinadas de manera tradicional favoreciendo a las primeras.

Tomando en consideración sólo estos resultados se puede decir que el proceso de extrusión es un método de cocción eficiente en la inactivación y destrucción de compuestos tóxicos presentes en la semilla de frijol y que, debido a esto, resulte un producto potencialmente más fácil de digerir.

CUADRO 4-4. DETERMINACION DE ACIDO FITICO E INHIBIDORES DE TRIPSINA

FRIJOL	AC. FITICO ($\mu\text{mol/mL}$)	% INACTIV.	INH. TRIPSINA (UTI/mg)	% INACTIV.
Suave crudo	10.098	---	18.876	---
Suave, cocción tradicional*	6.993	30.75	9.412	50.137
Endurecido cocción tradicional	5.764	33.85	6.210	63.30
Endurecido cocción tradicional con 0.3% de Ca(OH)_2	5.486	37.04	5.983	64.63
Endurecido extrudido	5.056	41.97	5.440	67.84
Endurecido extrudido con 0.3% de Ca(OH)_2	4.723	45.80	3.960	80.11

*Muciño-Raymundo (1989).

Al considerar los costos de producción, esto es, analizando tanto el tiempo de proceso como el gasto de energía y la capacidad de producción, la extrusión del frijol resulta muy superior al cocinado tradicional del frijol, ya que el tiempo de cocción es de 2 minutos y es posible procesar una gran cantidad de material en poco tiempo, lo cual no sucede en el cocinado tradicional puesto que requiere de hasta 6.10 hrs para procesar una pequeña cantidad de materia prima.

Con objeto de determinar el efecto de la extrusión sobre las propiedades nutricias del frijol se realizó una prueba biológica. Esta fue la relación de eficiencia proteínica (REP), ya que esta prueba no solo permite inferir sobre la calidad de la proteína sino que, al considerar el tiempo de duración, es posible determinar cualitativamente la influencia de compuestos tóxicos remanentes sobre el crecimiento y comportamiento de los animales de estudio.

Es conveniente aclarar que las dietas empleadas en la determinación de la REP se prepararon de manera que, tanto el aporte proteínico como el calórico, fuesen los requeridos para llevar a cabo normalmente las funciones metabólicas y no dar lugar a que un exceso pudiese acumularse como grasa o dar origen a una oxidación debida al exceso de proteína.

Al comparar los resultados de la muestra cruda, de las muestras extrudidas y cocinadas tradicionalmente se puede apreciar que la cocción sí tiene un efecto sobre la calidad nutricia del grano de frijol, ya que las ratas alimentadas con la dieta de frijol crudo murieron en el lapso

de una semana, lo que no sucedió en las muestras cocinadas ya sea por extrusión, cocción tradicional o cocción alcalina.

Los resultados de la relación de eficiencia proteínica se muestran en el cuadro 4-5. De acuerdo con los valores obtenidos se puede pensar que, si bien el frijol sufre cambios químicos en su composición durante el proceso de endurecimiento éstos no afectan seriamente la calidad de la proteína, puesto que los valores de la REP más altos correspondieron a las muestras endurecidas extrudidas con o sin adición de hidróxido de calcio.

El análisis estadístico de los resultados permitió determinar diferencias significativas entre los valores obtenidos de la REP de las diferentes muestras. En este análisis se compararon los valores de todas las muestras con el obtenido para la muestra suave coccinada tradicionalmente. Este último dato fue obtenido de la literatura (Muciño-Raymundo, 1989) y corresponde a la misma variedad de estudio de este proyecto ("ojo de cabra").

Inicialmente se comparó la muestra endurecida con la muestra suave, ambas cocinadas a presión atmosférica. En este caso no se determinó una diferencia significativa ($P=0.001$) entre las muestras, lo cual reafirma de alguna manera lo asentado anteriormente, respecto a los cambios químicos sufridos por el frijol endurecido aceleradamente. Esto es, que las alteraciones sufridas por el grano endurecido no son suficientes como para modificar la calidad de la proteína, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Martínez-Ayala (1989).

Todos los tratamientos (cocción tradicional con 0.3% de Ca(OH)_2 , extrusión y extrusión con adición de 0.3% de Ca(OH)_2) mostraron diferencias significativas respecto a la muestra suave cocinada tradicionalmente ($P=0.01$) favoreciendo a las primeras. Por otra parte, al comparar los resultados obtenidos para las muestras extrudidas, con y sin adición de 0.3% de Ca(OH)_2 , se registró una diferencia significativa ($P=0.01$) entre estos ensayos. De esto se infiere que la adición de hidróxido durante la cocción, sin importar si ésta se realiza por extrusión o a presión atmosférica es una práctica conveniente, ya que se obtienen REP's mayores y significativamente diferentes del valor registrado por la muestra sin endurecer y probablemente se obtengan productos más fáciles de asimilar por el organismo. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Crail-Chávez (1987) y Martínez-Ayala (1989).

El efecto que ejerce el hidróxido de calcio sobre el grano de frijol puede ser semejante al que tiene durante la nixtamalización del maíz; esto es, que favorezca la liberación de niacina disponible, que se favorezca la disponibilidad biológica de la lisina y el triptofano, que se favorezca la gelatinización parcial del almidón y que al final, todos estos cambios se traduzcan en un producto con una mejor calidad proteínica y nutricia.

Al comparar los resultados de las muestras cocinadas tradicionalmente y extrudidas se observa una clara ventaja del proceso de extrusión sobre la cocción tradicional, ya que el tiempo requerido para procesar las

muestras es corto y se obtienen REPs mayores. Esto concuerda con lo reportado por Martínez-Ayala (1989).

CUADRO 4-5. VALORES DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEINICA (REP)

DIETA FRIJOL	REP EXP.	REP AJUST. ¹
Endurecido cocción tradicional	1.019	1.099
Endurecido cocción tradicional con 0.3% de Ca(OH) ₂	1.102	1.188
Endurecido extrudido	1.191	1.284
Endurecido extrudido con 0.3% de Ca(OH) ₂	1.225	1.321
Crudo endurecido	----	----
Suave cocción tradicional*	----	1.13
Caseína	2.318	2.5

*Consultado en bibliografía (Mucifío-Raymundo, 1989)

¹ REP ajustada a un valor de 2.5 de caseína.

Asimismo, la pérdida de compuestos tóxicos es mayor en este proceso. Por todo lo anterior, puede considerarse que la cocción por extrusión puede ser una opción altamente conveniente en la utilización industrial del frijol que presenta la característica de endurecimiento. En referencia a la adición de hidróxido de calcio a las muestras se puede decir que, en general, esta práctica es conveniente ya que mejora la calidad proteínica de las dietas.

Considerando que la REP de la muestra de frijol endurecido extrudido con adición de 0.3% de cal es significativamente diferente ($P=0.05$) a la de la muestra suave cocinada tradicionalmente, favoreciendo a la primera, puede inferirse que no hay pérdidas importantes de algún nutrimento debidas a la extrusión y que la diferencia se debe a los efectos de la cal sobre los constituyentes del grano de frijol como ya se mencionó anteriormente.

Entre otros beneficios importantes de la extrusión se encuentran el bajo consumo de agua y energía eléctrica, lo que se refleja en bajos costos de producción. Además, es una operación que requiere de tiempos cortos para procesar grandes cantidades de materia prima (2 min en el extrusor). Esto es, no se requiere de remojo previo de 24 horas ni de un período de cocción mínimo de 30 minutos en autoclave.

En otras palabras, esto quiere decir que el tiempo de producción se ve ampliamente favorecido por la aplicación de este método de cocción. Por otra parte, la destrucción de compuestos tóxicos por este método (extrusión) es significativamente diferente ($P=0.01$) a la obtenida por los otros métodos de cocción estudiados, favoreciendo a la extrusión, además de ser altamente eficiente (extrusión: 41.97% de eliminación de ácido fítico y 67.84% para inhibidores de tripsina; "extrusión alcalina": 45.8% para ácido fítico y 80.11% para inhibidores de tripsina), ya que se obtienen porcentajes de destrucción superiores a los obtenidos por los otros métodos aquí analizados (cocción tradicional: 33.35% para ácido fítico y 63.30% para inhibidores de tripsina, tratamiento térmico alcalino: 37.04% para ácido fítico y 64.63% para

inhibidores de tripsina) en tan sólo dos minutos de cocción, tiempo en que tarda en ser procesada la muestra a través del extrusor. Además, las harinas precocidas obtenidas por este método ofrecen un amplio campo de investigación en el desarrollo de nuevos productos elaborados con frijol endurecido, ya sea como ingrediente principal o formando parte de nuevas formulaciones, con lo que se aprovecharía un producto considerado tradicionalmente como de desecho.

VI. SUGERENCIAS

En esta sección se proponen algunos productos que podrían elaborarse a base de frijol endurecido extrudido que pueden ser complementados con algunos otros alimentos, como por ejemplo cereales o por adición directa de aminoácidos:

- Galletas elaboradas a base de mezclas de cereales y leguminosas (frijol), cubiertas con chocolate.
- Bocadillos a base de cereales (maíz), rellenos con frijol espolvoreados con chile en polvo.
- Botanas hechas totalmente con frijol y condimentadas con queso y chile en polvo.
- Frijol instantáneo, elaborado principalmente con harina de frijol extrudido.
- Pastelillos suplementados con harinas extrudidas de frijol.
- Palitos de pan, galletas saladas o pastas elaboradas con cereal y harina de frijol extrudido.
- Pan de caja suplementado con las harinas extrudidas de frijol.
- Dulces cubiertos con chocolate.
- Harinas preparadas (Hot-cakes, pasteles, pizzas, etc.) adicionadas con las harinas extrudidas.
- Atoles en polvo con una pequeña porción de harina de frijol extrudido en su formulación.

- Pan de dulce elaborado con mezclas de cereal y leguminosas (frijol extrudido).
- Puré de papa adicionado con harina de frijol extrudido.
- Salsas que incluyan en su formulación a las harinas extrudidas.
- Tlacoyos (tortillas de maíz con frijol).

VII. CONCLUSIONES

- Como el peso del grano se ve afectado desfavorablemente por el proceso de endurecimiento y éste tiene un marcado efecto sobre las propiedades de cocción del mismo cuando ésta se realiza a presión ambiente, puede concluirse que, para las variedades susceptibles al endurecimiento, se promueva la cocción por extrusión justo después de la cosecha in situ usando extrusores de campo.
- El contenido de compuestos tóxicos disminuye debido al proceso de endurecimiento. El proceso de extrusión favorece la pérdida de compuestos tóxicos, sin que por ello se afecte la calidad nutricia del frijol endurecido debido a alteraciones en sus nutrimentos, cuando ésta se mide usando la relación de eficiencia proteínica.
- La adición de 0.3% de Ca(OH)_2 a las muestras de estudio tiene un efecto importante sobre la susceptibilidad de los compuestos tóxicos aquí estudiados (inhibidores de tripsina y ácido fítico) a ser destruidos por el tratamiento térmico, no importando si éste es por extrusión o por cocción tradicional, lo que repercute en un incremento de la calidad proteínica medida como relación de eficiencia proteínica.
- La aplicación del proceso de extrusión como alternativa de utilización del frijol endurecido puede ser una opción conveniente con grandes ventajas, tanto en la producción como en el manejo de los productos extrudidos.

- El proceso de extrusión no modifica la calidad nutricia del frijol. Sin embargo, para poder emplearlo convenientemente, se hace necesaria la suplementación de éste con aminoácidos o con mezclas de cereales ya que los valores de REP obtenidos no son comparables con el obtenido para caseína.
- Al comparar el proceso de extrusión con la cocción tradicional el primero resulta ventajoso sobre el segundo ya que, no requiere de grandes espacios para su operación, el tiempo de proceso es corto, no requiere de grandes gastos de energía, es posible procesar gran cantidad de materia prima en corto tiempo y, en este caso particular, las muestras no requieren de un remojo previo de 24 horas. La desventaja de este proceso es que las muestras deben procesarse en forma granular, esto es, deben molerse previamente.
- La extrusión del frijol en general, (sin importar su condición), ofrece un amplio campo de trabajo en el desarrollo de nuevos productos que incluyan a éste como componente importante de nuevas formulaciones de alimentos procesados.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Anónimo, 1974. "How to specify a food extruder". *Food Eng.*, (4):94-95.
- Anónimo, 1989. "Single-and-twin screw extruders in food processing". *Food Technol.* Abril, 164-174.
- AOAC., 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th. Ed., Assoc. of Offic. Anal. Chem. Washington D.C. EEUUA.
- Bonilla A.R., Calzada C. y Cooke R., 1990. "Efectos de la cocción tradicional sobre los factores antinutricionales de los frijoles negros (Phaseolus vulgaris) de Costa Rica.". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 41(4):609-618.
- Boulle M., 1987. "A new caseinate manufacturing process for high concentration caseinate". EN *Extrusion Technology for the Food Industry*. C. O'Connor (Ed.) Cap. 9. Pág. 96. Elsevier Applied Science; Nueva York, EEUUA.
- Bressani R., 1989. "Revisión sobre la calidad del grano de frijol". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 39(3):419-422.
- Bressani R., 1982. "El significado alimenticio y nutricional del endurecimiento del frijol". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32:308-325.

- Bressani R., 1972. "Legumes in human diets and how they might be improved". En *Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding*. M. Miller (Ed.). Protein Advisory Group of United Nations Systems. Nueva York. EEUUA.

- Bressani R., Elías G.L. y de España M.E., 1981. "Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol común (Phaseolus vulgaris)". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 31(3): 550-570.

- Burr H.K., 1973. "Effect of storage on cooking qualities, processing and nutritive value of beans". En *Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as an animal and human foods*. Jaffé W.G. (Ed.) Pag. 81. Proceedings of a meeting held. Brazil USAID. Washington D.C., EEUUA.

- Carpenter K.J., 1981. "The nutritional contribution of dry beans (Phaseolus vulgaris) in perspective". *Food Technol.*, Marzo 77-78.

- Conn E.E., 1973. "Cyanogenetic Glycosides" En *Toxican Occurring Naturally in Foods*. National Academy of Sciences, 2a. edición. Washington, D.C. EEUUA.

- Crail-Chávez M. L., 1987. "Cambios en las propiedades fisicoquímicas y valor nutricional del frijol por tratamiento alcalino". *Tesis profesional*. ENCS, IPN. México, D.F., México.

- Cravioto R., Lockhart E.E., Anderson R.K. y Miranda F.P. 1945. "Composition of typical Mexican food". *J. Nutr.*, 29:317-329.

- Deshpande S.S. y Nielsen S.S., 1987. "In vitro enzymatic hydrolysis of phaseolin, the major storage protein of Phaseolus vulgaris L." *J. Food Sci.*, 52:1326-1329.

- Deshpande S.S. y Damodaran S., 1989. "Effect on phytate on solubility activity and conformation of trypsin and chymotrypsin" *J. Food Sci.*, 54:695.

- Elías L.G., 1982. "Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento del frijol". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32(2):233-257.

- Elías L.G., García Soto y Bressani R., 1986. "Métodos para establecer calidad tecnológica y nutricional del frijol (Phaseolus vulgaris)". Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Apartado Postal 1188, Guatemala C.A.

- García-Vela L.A. y Stanley D.W., 1989. "Protein Denaturation and Starch Gelatinization in Hard-to-Cook Beans". *J. Food Sci.*, 54(5):1284-1292.

- Gaurth H.R., Bonita W.W. y Sorenson W.A., 1983. "Nutritional Quality Index of Foods". AVI Publishing Company Inc. Westport, EEUUA.

- González-de-Mejía E., 1982. "Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de la dureza del frijol". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32(2):258-274.

- Guerra R. y Durán-de-Bazúa C., 1977. "Extrusión de granos y semillas". *Informe interno de investigación*. Laboratorio de maíz y sorgo. Coord. Labs. Calidad. INIA.SARH. Chapingo, México. México.
- Guerra R. 1978. *Tesis profesional*. Facultad de Química, UNAM, México. D.F. México.
- Harmann V. D. y Harper H.J., 1974. "Modeling a Forming Food Extruder". *J. Food Sci.*, 39:1099-1104.
- Harper H. J., 1978. "Extrusion Processing of Food". *Food Technology*, Jul. 67-72.
- Hauck B.W., 1988. "Is the single screw extruder about to become a dinosaur?". *Petfood Industry*, 30(2):16.
- Haug W. y Lantzsch H.J., 1983. "Sensitive method for rapid determination of phytate in cereals and cereal products". *J. Sci. Food Agric.*, 34:1423-1426.
- Hernández M., Chávez A. y Bourges H. 1987. "Valor nutritivo de los alimentos mexicanos". *Tablas de uso práctico*. Publicaciones de la División de Nutrición, L-12, 10a. Ed. Instituto Nacional de la Nutrición. México, D.F., México.

- Hernández M., de la Vega A. y Sotelo A., 1984. "Determinación de la digestibilidad proteínica in vitro e in vivo en cereales y leguminosas crudos y cocidos". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 34(3):513-521.
- Hincks M.J. y Stanley D.W., 1987. "Lignification evidence for role in hard-to-cook beans". *J. Food Biochem.*, 11:41.
- Huber R.G., 1991. "Carbohydrates in Extrusion Processing". *Food Technol.*, Mar.160-164.
- INEGI., 1990. "El Sector Alimentario". México, D.F., México.
- INEGI., 1992. "El Sector Alimentario". México, D.F., México.
- Jaffé W.G., 1980. "Hemagglutinins (Lectins)". En *Food Science and Technology: A series of Monographs. Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. 2a. Ed. Irvin E. Liener (Ed.) Academic Press, Cap. 3, 73-85. Nueva York, EEUUA.
- Jaffé W.G. y Flores M.E., 1975. "La cocción de frijoles (Phaseolus vulgaris)". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 25(1):79-90.
- Jackson G.M. y Varriano-Marston E., 1981. "Hard-to-cook Phenomenon in Beans: Effects of Accelerated Storage on Water Absorption and Cooking Time". *J. Food Sci.*, 46:799-803.

- Jones P.H.B. y Boulter D., 1983. "The Cause of Reduced Cooking Rate in Phaseolus vulgaris Following Adverse Storage Conditions". *J. Food Sci.*, 48:623-626.

- Kakade H.L., Simons N.R., Liener I.E. y Lambert J.W., 1974. "Determination of trypsin inhibitor activity of soy products". *Cereal Chem.*, 51:376-382.

- Kon S., 1979. "Effect of Soaking Temperature on Cooking and Nutritional Quality of Beans". *J. Food Sci.*, 44:1329-1340.

- León L.F de, Bressani R. y Elías L.G., 1989. "Efecto de la cáscara sobre el mecanismo de endurecimiento del frijol común (Phaseolus vulgaris)". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 39 (3):407.

- Liener I.E., 1972. "Antitryptic and antinutritional factor in legumes". En: *Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding*. Max Miller (Ed.) Protein Advisory Group of United Nations Systems, Nueva York. EEUUA.

- Liener I.E. y Kakade L.M., 1980. "Protease Inhibitors". En *Food Science and Technology: A series of Monographs. Toxic Constituents of Plants Foodstuffs*. 2a. Ed. Irvin E. Liener (Ed.) Academic Press, Cap.2:7-75. Nueva York, EEUUA.

- Linko P., Linko Y.-Y. y Olkku J., 1983. "Extrusion cooking and bioconversions". *J. Food Eng.*, 2:243.

- Márquez U.M.L. y Lajolo F.M., 1981. "Composition and digestibility of albumin, globulins and glutelins from Phaseolus vulgaris". *J. Agric. Food Chem.*, 29:1068.

- Martínez Ayala A.L., 1989. "Evaluación de la calidad reológica y nutricional de un producto extrudido elaborado con frijol endurecido". *Tesis de Maestría*, ENCB, IPN. México, D.F., México.

- Melniek D., Oser B.L. y Weiss S., 1946. *Science*, 103:326-329.

- Mialonier G., Privat J.P., Monsigny K.G. y Durand R., 1973. *Physiol. Veg.*, 11:519.

- Mitjavila S., 1990. "Sustancias naturales nocivas en los alimentos". En *Toxicología y seguridad de los alimentos*. R. Derache (Ed.) Ed. Omega. Cap. 7:109-132., Barcelona, España.

- Molina M.R., Baten M.A., Gómez-Brenes R.A., King K.W. y Bressani R., 1976. "Heat treatment: A process to control the development of the hard-to-cook phenomenon in black beans (Phaseolus vulgaris)". *J. Food Sci.*, 41:661-666.

- Montgomery R.D., 1980. "Cyanogens". En *Food Science and Technology: A Series of Monographs. Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. 2a. Ed. Irvin E. Liener (Ed.) Academic Press., Cap.5:143-157. Nueva York, EEUUA.

- Moreno E.M., Cárabes A.T., Bernal I.L. y Nieto Z.V., 1986. "Endurecimiento del frijol: sus causas, naturaleza, prevención y usos del frijol" *Informe interno*. UNAM, Facultad de Química. Instituto de Biología. México, D.F., México.

- Moscoso W., 1982. Efecto del almacenamiento a temperatura y humedad altas sobre algunas características físicas y químicas del frijol". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32(2):342.

- Moscoso W., Bourne M.C. y Hood L.F., 1984. "Relationships between the hard-to-cook phenomenon in red kidney bean and water absorption puncture force pectin, phytic acid and minerals". *J. Food Sci.*, 49:1557-1563.

- Muciño Raymundo S., 1989. "Efecto del endurecimiento acelerado sobre el contenido de los iones Ca y Mg y ácido fítico en frijol". *Tesis profesional*, Facultad de Química, UNAM. México, D.F., México.

- Mustakas G.C., Albrecht W.J., Bookwalter G.N., Mc Ghee J. E., Kwolek W.F. y Griffin E.L., 1970. "Extruder processing to improve nutritional quality, flavor, and keeping quality of full-fat soy flour". *Food Technol.*, 24:102.

- N.A.S.N.R.C., 1963. *National Academy of Sciences*. National Research Council. Washington D.C. EEUUA.

- Newman C.W., Roth N.J., Newman R.K. y Lockerman R., 1987. "Protein quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.)" *Nutr. Rev. Intl.*, 31:1.

- Nielsen S.S., 1991. "Digestibility of legume proteins". *Food Technol.*, Sept., 112-118.
- N.O.M., 1982. *Norma Oficial Mexicana.Frijol NOM-FF-38-1982*. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (Secretaria de Comercio). México, D.F. México.
- Osborne T.B., Mendel L.B. y Ferry., 1919. " A method of expressing numerically the growth promotion value of proteins".*J. Food Sci.*, 9:1352-1358.
- Pak N. y Araya H., 1981. "Frijol extrudido: Potencialidad de su utilización en la alimentación infantil". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 31(2):371-383.
- Phillips D.E., Eyre M.D., Thompson A. y Boulter D., 1981. "Protein quality in seed meals and heated factors affecting the utilization of protein on Phaseolus vulgaris". *J. Sci. Food Agric.*, 28(4):423.
- Reddy N.R., Pierson M.D., Sathe S.K. y Salunkhe D.K., 1989. "*Phytates in cereals and legumes*". CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, EEUU.
- Rockland B.L. y Radke M. T., 1981. "Legume Protein Quality". *Food Technol.*, Mar., 79-82.

- Rossen L.J. y Miller C.R., 1973. "Food Extrusion". *Food Technol.*, August. 46-53.

- Sanderude G.K. y Ziemba V.J., 1968. "New products come easy with extrusion cooking". *Food Eng.*, August, 84-87.

- SARH/INIA, 1985. Comunicación personal.

- Seller K., 1989. "La extrusión HTST (High-Temperature Short-Time) como moderna tecnología para el procesamiento de cereales". *Industria Alimentaria*, (23):15-21.

- Serraino R.M., Thompson V.L., Savoie L. y Parent G., 1985. "Effect of Phytic Acid on the In-Vitro Rate of Digestibility of Rapeseed Protein and Amino Acids". *J. Food Sci.*, 50:1689-1692.

- Silva C.A.B., Bates R.P. y Deng J.C., 1981. "Influence of soaking and cooking on the softening and eating quality of black beans (Phaseolus vulgaris)". *J. Food Sci.*, 46:1716.

- Smith B.O., 1975. "Extrusion and Forming Creating New Foods". *Food Eng.*, Jul. 48-50

- Tabekhia M.M. y Luh B.S., 1980. " A research note. Effect of germination, cooking and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans". *J. Food Sci.*, 45:406-408

- Thompson L.V. y Serraino M.R., 1986. "Effect of phytic acid reduction on rape seed protein digestibility and amino acid absorption". *J. Agric. Food Chem.*, 34:468.
- Uebersax M.A., Ruengsakulrach S. y Occeña L.G., 1991. "Strategies and procedures for processing dry beans". *Food Technol.*, Sept.104-111.
- Valle P., 1986. "*Toxicología de alimentos*". Organización Panamericana de la Salud y Centro de Ecología Humana y Salud. Metepec, Edo. Mex. México. Pág:7-15.
- Varriano-Marston E. y Jackson M.G.,1981. "Hard-to-cook phenomenon in beans: structural changes during storage and imbibition", *J. Food Sci.*, 46:1379-1385.
- Verdejo V.D., Alvarez J.D., Valle-Vega P., Nieto V.Z., Bernal I.,1987. "Efecto del envejecimiento acelerado sobre factores antinutricionales del frijol (*Phaseolus vulgaris*)". *Informe Interno*. Facultad de Química, UNAM. México, D.F., México.
- Whetaker J.R. y Feeney R.E., 1973. "Protease Inhibitors". En: *Toxicants Occuring Naturally in Foods*. National Academy of Science. 2a. edición. Washington D.C., EEUUA.

ANEXO

CUADRO A-1 COMPOSICION DE LAS DIETAS

COMPONENTES	CANTIDAD (%)
Proteína*	10
Celulosa	2
Mezcla de vitaminas	1
Mezcla de minerales	4
Aceite de maíz	5
Azúcar	10
Almidón	68

*Caseína para la dieta control y frijol

para las muestras de estudio

CUADRO A-2 MEZCLA DE VITAMINAS

VITAMINA	mg/kg DE DIETA
Acido para-amino benzoico	110.229
Acido ascórbico	1017.520
Biotina	0.441
Pantotenato de calcio	66.137
Vitamina B ₁₂ (0.1% en manitol)	29.762
Citrato de colina	3715.123
Acido fólico	1.984
L-Inositol	110.229
Menadiona	49.603
Acido nicotínico	99.206
Clorhidrato de piridoxina	22.045
Riboflavina	22.045
Clorhidrato de tiamina	22.045
Vitamina A seca (500,000U/g)	1984.100 U.I.
Vitamina D seca (500,000U/g)	220.400 U.I.
Acetato de vitamina E	12.12

CUADRO A-3 MEZCLA DE MINERALES

MINERAL	g/100g DE MEZCLA	g/kg DE DIETA
CaCO_3	29,29	11.716
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.43	0.172
KH_2PO_4	34.31	13.742
NaCl	25.06	10.024
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9.98	3.992
$\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.623	0.249
CuSO_4	0.156	0.062
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.121	0.048
ZnCl_2	0.020	0.008
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.0025	0.001
$\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0015	0.0006

DETERMINACION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA

Esta es una técnica que se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso (solución de NaOH 0.01N) de la muestra sobre una solución estándar de tripsina.

Una unidad de tripsina (U.T.) se define arbitrariamente por Kakade y colaboradores (1974) como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm por cada 10 mL de mezcla de reacción.

SOLUCIONES

(a) 6.05g de TRIS (hidroximetil-amino-metano) y 2.94g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se disuelven en 900mL de agua destilada. Se ajusta el pH a 8.2 y se afora a un volumen de 1L.

(b) 100mg de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida-HCL (BAPNA) se disuelven en 2.5 mL de dimetil sulfóxido y se diluye a 250 mL con amortiguador TRIS previamente calentado a 37°C. Esta solución debe prepararse el mismo día y mantenerse a 37°C cuando se este usando.

(c) Se pesan con mucha exactitud 4 mg de tripsina bovina (SIGMA T-8253) y se disuelven en 200 mL de HCl 0.001N. Esta solución contiene 20 ug de tripsina/mL y debe almacenarse en refrigeración, puede durar de 2-3 semanas sin pérdida apreciable de actividad.

PROCEDIMIENTO

A) Preparación del extracto:

Se pesa 1 gramo de muestra finamente molida en un vaso de precipitado y se le adicionan 45 mL de NaOH 0.01N, se ajusta el pH a 9.6 ± 0.2 y se afora a 50 mL. A continuación se trasvasa a un vaso que contenga un magneto, se agita mecánicamente por espacio de 2.5 horas a 300 rpm. Después de este tiempo se retira el magneto y se deja en reposo por 30 minutos. Por simple decantación se obtiene el sobrenadante y se elimina el residuo insoluble.

El sobrenadante debe ser diluido hasta el punto en que 1 mL produzca una inactivación de 40-60%; este requisito es indispensable para reducir la desviación estándar relativa.

B) Determinación de la actividad:

Porciones de 0.0, 0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 mL de extracto directo o dilución se pipetea en tubos de ensayo por duplicado y se ajusta el volumen a 2.0 mL con agua destilada. Se adicionan 2.0 mL de solución estándar de tripsina -previamente puesta a 37°C- y a los tubos blanco se les agrega también 1.0 mL de ácido acético al 30%.

Se somete a baño maría por espacio de 10 minutos transcurrido este tiempo se añaden 5 mL de solución BAPNA a 37 °C en todos los tubos y se mantiene esta mezcla de reacción por 10 minutos exactos -medidos con cronómetro-. Detener la reacción enzimática agregando 1 mL de ácido

acético al 30% en los tubos a los cuales no se les adicionó dicho ácido inicialmente.

Cuando por adición del ácido acético el tubo de reacción se enturbie o forme un precipitado será necesario filtrar el contenido a través de papel filtro (Whatman #1); para ello es conveniente dejar el tubo en reposo por 15 minutos (aprox.) y después filtrar primero el sobrenadante y posteriormente el precipitado. Es importante cerciorarse de que el filtrado esté transparente.

Más adelante se presenta La tabla A-1 que ilustra de forma condensada los pasos a seguir durante la determinación.

La lectura en el espectrofotómetro se realiza a 410 nm y es necesario para cada una de las alícuotas del extracto primero ajustar el aparato a 100% de transmitancia con su respectivo blanco. Hay que recordar que el tubo con 0.0 mL de extracto es nuestra referencia (40 ug tripsina/10 mL), sobre el cual se basarán los cálculos.

CALCULOS

La lectura en absorbancia (A), se puede pasar directamente a unidades de tripsina (U.T. previamente definidas).

$$U.T. = A \times 100$$

TABLA A-1 PASOS A SEGUIR PARA LA DETERMINACIÓN DE INHIBIDORES DE
TRIPSINA

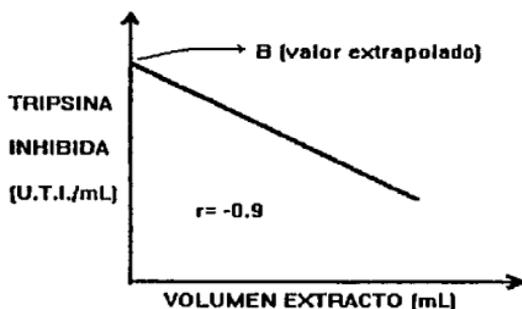
Tubo número	mL extracto	mL agua	mL solución estándar 37°C/10 min.	mL BAPNA a 37°C	mL ácido acético al 30%
B ₁	1.8	0.2	2.0*	5.0	---
1	1.8	0.2	2.0*	5.0	1.0
B ₂	1.4	0.6	2.0*	5.0	---
2	1.4	0.6	2.0*	5.0	1.0
B ₃	1.0	1.0	2.0*	5.0	---
3	1.0	1.0	2.0*	5.0	1.0
B ₄	0.6	1.4	2.0*	5.0	---
4	0.6	1.4	2.0*	5.0	1.0
B _p	0.0	2.0	2.0*	5.0	---
R	0.0	2.0	2.0*	5.0	1.0

* Más 1 mL de ácido acético al 30 %.

Ya que se tiene una serie de alícuotas del extracto, se tendrá a su vez una serie de valores de U.T. Al restar este valor al dato de referencia se obtendrán los valores correspondientes a unidades de tripsina inhibida (U.T.I.) y, por consiguiente, se puede calcular el valor de U.T.I./mL de cada una de las alícuotas.

Cuando se hace una gráfica de actividad enzimática inhibitoria en función de la alícuota del extracto, se observa una correlación lineal

negativa; de donde se puede obtener el valor extrapolado, correspondiente al valor de la solución inhibitoria.



Este dato extrapolado, es el valor más cercano a la actividad inhibitoria verdadera o real (si se refiere uno al inhibidor de soya del tipo Kunitz).

NOTA: Cuando no se obtiene una correlación lineal satisfactoria ($r < 0.9$), se puede trabajar el valor promedio de la serie de alícuotas, reportando en términos de U.T.I./mL.

Es conveniente reportar unidades de inhibición por mg de proteína de la muestra, para lo cual es necesario determinar el contenido de proteína en el extracto directo. De no tener el dato anterior se puede reportar en unidades de inhibición con respecto a 1 mg de muestra.

$$\text{U.T.I./mg muestra} = B \times F \times 50/1000$$

Donde:

B = Valor extrapolado o promedio en U.T.I./mL

F = Factor de dilución, el que depende del número de diluciones realizadas. Cuando se trabaja el extracto directo $F = 1$.

$$F = (A_1/a_1) \times (A_2/a_2)$$

A_1 = aforo(s); a_1 = alicuota(s)

DETERMINACION DE ACIDO FITICO

El método que a continuación se describe es una modificación del método originalmente descrito por Young en 1936 (Haug y Lantzsch, 1983).

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Al grano de frijol se le quita manualmente la cáscara y el embrión. Los cotiledones y las cáscaras se secan y posteriormente se muelen por separado. La harina obtenida de los cotiledones se tamiza a que pase por malla 80 y se desengrasa, una vez desengrasada se utilizará en la determinación.

SOLUCIONES

(1) Solución de fitatos de referencia: Pesar 0.15 g de la sal de sodio del ácido fítico y disolverlos en 100 mL de agua destilada (solución patrón). Las soluciones de referencia se preparan a partir de la patrón con HCl en un intervalo de 3-30 $\mu\text{g/mL}$. La concentración final del HCl en las soluciones de referencia deberá ser 0.2 N.

(2) Solución de hierro: Disolver 0.2 g de sulfato férrico amonio dodecahidratado ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), en 100 mL de HCl 2.0 N y aforar a 1000 mL con agua destilada.

(3) Solución de 2,2'-bipiridina: Disolver 10 g de 2,2'-bipiridina y 10 mL de ácido tioglicólico en agua destilada y aforar a 1000 mL.

PROCEDIMIENTO

En un matraz Erlenmeyer de 25 mL se colocan 0.5 g de la harina de cotiledón anteriormente obtenida, se agragan 9.0 mL de Na_2SO_4 al 10% y 1.0 mL de HCl 2.0N. Agitar mecánicamente durante 24 horas a 4°C. Transcurrido este tiempo se centrifuga durante 50 minutos a 3000 rpm a 4°C.

0.5 mL del sobrenadante se transfieren a un tubo de ensaye y se adiciona 1.0 mL de solución 2. Tapar el tubo con un canica y se somete a baño de agua hirviente durante 30 minutos. Pasado este tiempo se retiran del baño y se dejan enfriar, una vez fríos se introducen en agua de hielo por espacio de 15 minutos. Se retiran del agua helada y se deja en reposo a que adquieran la temperatura ambiente, finalmente se centrifuga el contenido del tubo por espacio de 30 minutos a 3000 rpm.

Se tranfiere 1.0 mL del sobrenadante a un tubo de ensaye y se adiciona 1.5 mL de la solución 3. Medir la absorbancia a 519 nm contra un blanco de agua destilada. Correr una curva estándar de ácido fítico en un

intervalo de 3 a 30 ug/mL, lo que representa de 1.2 a 11.7 mL aproximadamente de la solución de referencia.