



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UN AISLADO DE
PROTEÍNAS DE FRIJOL NEGRO (*PHASEOLUS VULGARIS*)
VARIEDAD INIFAP-8025 Y SU APLICACIÓN EN
FORMULACIONES DE ALIMENTOS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
GABRIELA YABNÉ SALINAS RAMÍREZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: OLGA DEL CARMEN VELÁZQUEZ MADRAZO

VOCAL: Profesor: HUGO RUBÉN CARREÑO ORTIZ

SECRETARIO: Profesora: MARÍA AMANDA GÁLVEZ MARISCAL

1er. SUPLENTE: Profesor: FRANCISCO JAVIER CASILLAS GÓMEZ

2° SUPLENTE: Profesor: JUAN DIEGO ORTIZ PALMA PÉREZ

SITIOS DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LAB. 312, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, CONJUNTO E
DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM Y PLANTA PILOTO DEL INSTITUTO DE
BIOTECNOLOGÍA, UNAM

Dra. María Amanda Gálvez Mariscal

Asesora del tema

Dra. Carolina Peña Montes

Supervisora Técnica

Gabriela Yabné Salinas Ramírez

Sustentante

Agradecimiento Especial

Este trabajo contó con financiamiento del Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyTDF), ahora *Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación del Distrito Federal (SECITI)*, mediante el Proyecto Global PICS08-33 “Producción y aprovechamiento de un aislado de frijol como alimento funcional con influencia en la expresión génica que afecta lipogénesis” bajo la asesoría de la Dra. Amanda Gálvez Mariscal. Agradezco infinitamente a esta Institución el haberme otorgado una beca de Licenciatura por 15 meses.

Agradecimientos

Primeramente, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora de Tesis, Dra. Amanda Gálvez Mariscal, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con ella, transmitirme su conocimiento y ofrecerme su invaluable apoyo y accesibilidad en todos los sentidos: académico, profesional, social y moral. Muchas gracias por su profesionalismo como científica comprometida, por su bonita amistad y por su inmensa calidez humana.

Un agradecimiento muy especial al Instituto de Biotecnología, especialmente al Dr. Leobardo Serrano, al M.B. Raunel Tinoco y al Biól. Mario Caro, porque sin su valioso apoyo nada hubiera sido posible en esos largos días de trabajo en la Planta Piloto.

Al Instituto de Investigaciones Biomédicas, especialmente al Dr. Mauricio Trujillo, al Ing. Abel Blancas y al Biól. Jesús Villegas, por brindarme su apoyo para el uso de la Unidad de Bioprocesos.

A la Dra. Carolina Peña, por su apoyo científico y moral durante toda mi estancia en el laboratorio, por sus buenos consejos y por ser una gran persona más allá del trabajo.

Al Dr. Israel García Cano por sus sabias enseñanzas y cuidados. Por todas las presiones ejercidas para terminar este ciclo y por las experiencias compartidas. Estoy segura que serás un gran científico y líder académico.

A las Dras. Amelia Farrés y Maricarmen Quirasco por su grata colaboración durante los seminarios y el trabajo de laboratorio. En conjunto, hacen del laboratorio un lugar muy agradable de trabajo y de crítica constructiva.

A la Dra. Patricia Severiano, por formarme en el área de evaluación sensorial, y por su gran y excelente apoyo en esta Tesis para la realización de pruebas de agrado con consumidores. Cata, tú también eres parte esencial de este agradecimiento al igual que todos los chicos de ese laboratorio que me apoyaron sin dudarlo.

Al Dr. Alberto Tecante y a la I.A. Mariana Ramírez Gilly por permitirme hacer uso de su laboratorio durante la fase inicial de mi trabajo y que fue decisiva en el desarrollo del mismo.

A las Dras. Gloria Dávila Ortiz y Liliana León López de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, por su gran ayuda en la realización de análisis de inhibidores de tripsina.

A los Dres. Armando Tovar y Nimbe Torres del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, pues gracias a su trabajo, mi Tesis se alineó desde un inicio de forma adecuada.

Al Dr. Arturo Navarro y a la Q.A. Natalia Villareal, por su apreciable apoyo para la realización de análisis de cuantificación de antocianinas.

A los integrantes de mi jurado: Profesores Olga Velázquez y Hugo Carreño, por sus valiosas aportaciones en la revisión de esta Tesis. Muchas gracias también por su apoyo durante mi carrera en la Universidad, pues aprendí mucho de Ustedes.

A la Dra. Cecilia Bañuelos, M.B. Guadalupe Olmedo, M. en C. Guadalupe Ramírez, Ing. Yolanda Cruz, M.B. Martha Juárez, M. en C. Susana Osorio, Dra. Rosalba León, Mtro. Alejandro Moreno y Q.F.B. Nitzia Morgado, pues gracias a ustedes descubrí lo que en verdad significa pertenecer a un equipo excelentemente organizado, comprometido y sincero. Muchas gracias además, por su valiosa amistad.

A Arlin Reyes, por su apoyo en el diseño gráfico de esta Tesis: tienes una maravillosa imaginación.

Al Programa Universitario de Alimentos, especialmente a la I.A. Rocío Fernández, Q.A. Myriam Radyx y a la Ing. Consuelo Enriquez, pues a su lado aprendí muchísimas cosas en lo laboral y en lo social: son excelentes personas y amigas.

A la Sra. Gloria Ferrer, pues su ayuda fue elemental para el desarrollo de mis prototipos. Muchas gracias además por todas las porras y consejos.

A las M. en C. Argelia Sánchez, Lucía Cornejo y Q.F.B. Lulú Gómez, por sus buenas recomendaciones, su amistad y por seguir de cerca mi camino durante gran parte de la carrera.

Al IQ Alejandro Iñiguez Hernández y al Dr. Plinio Sosa, porque tuvieron una gran influencia en mí para no dejarme vencer y para seguir adelante.

Finalmente, quisiera agradecer a todos aquellos profesores que me formaron académicamente durante mi vida estudiantil, muchos de los cuales ya no están presentes pero dejaron una huella importante en mi camino.

¡Mil gracias!

Dedicatorias

Es momento de cerrar un ciclo en mi vida y abrir paso a nuevas experiencias y mayores retos. Dedico con mucho cariño esta Tesis:

A Dios, por guiarme en todo este proceso, iluminar cada día de mi vida, por ponerme retos constantes, colmarme de grandes bendiciones y permitirme seguir adelante.

A mi alma máter, la UNAM, por permitirme formar parte de su excelencia académica y acogerme en tan magníficas instalaciones. Son grandes tus enseñanzas y con mucha gente valiosa que respalda tu lugar en el mundo.

A mi mamá Leticia Ramírez y mi papá Noé Salinas por sus grandes enseñanzas, su apoyo, su amor, su confianza y por creer siempre en mí. Gracias por inculcarme los valores que han hecho de mí lo que soy... ¡Los amo!

A mis hermanitos queridos Diego y Beto, por todas las experiencias compartidas y por su gran apoyo, cariño y comprensión.

A mi sobrina y ahijada Lía, por alegrar mi vida todos los días y ser una bendición para la familia.

A Alex: por iniciar este largo camino conmigo. Gracias por tu amor, tu cariño, tu compañía y por no dejarme caer en los malos momentos... ¡Eres grandioso!

A mis ángeles: Chabelita y Natalio por mostrarme el valor de la tradición, la gastronomía mexicana y la unidad familiar, y Cresenciano, por enseñarme a valorizar los alimentos tradicionales mexicanos.

A mis tíos y tías: Toto, Raúl, Piluchita, Yuya, Carmela, por creer en mí, darme gratas experiencias, apoyarme en todos los sentidos y enseñarme a luchar siempre. Tío Juan, Laura, Blanca, Norma, Marcos, Isabel, Jorge, José, Fabis, Eli y toda mi gran familia, ustedes también son parte importante de mi desarrollo personal y profesional.

A mis abuelitos: María, Héctor y Ángela, por su apoyo constante y su infinito cariño.

A los Chilapos: Diana, América, Polly, Belen, Michel, Lili, Kika, Tito... primos queridos, la vida no sería lo mismo sin ustedes y sus locuras. A las nuevas generaciones: Monse (mi ahijada querida), Brayan, Lalo, Ubaldo, Karla, Kaori... y todos los que vienen debajo, luchan siempre por lo que desean y no se dejen vencer. Saben que estoy para apoyarlos.

A mis "Pumitas": Karlis, Pame, Alhelí, Karacol, Miguelito, Óscar, Axel, Luis Ángel, porque su amistad es invaluable y mi vida en la Universidad no hubiera sido lo mismo sin ustedes. Porque desde primer semestre siempre estuvieron a mi lado y desde entonces he contado con su apoyo y cariño como una hermandad.

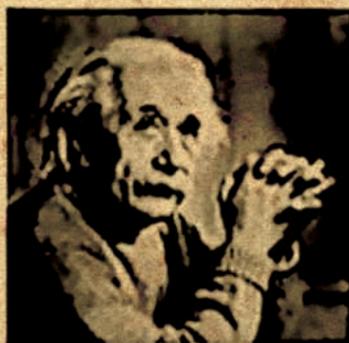
A mis compañeros y amigos del Lab. 312: Eva, Myrna, Lalo, Ales, Serch, Manu, Marianita, Irma, Xime, Aline... muchas gracias por su brillante apoyo y por tantas cosas increíbles que pasamos juntos, sé que llegarán muy lejos mis científicos junior.

Sara, Ilse, Cindy, Vic, Augusto, Magda, Lety... aunque el tiempo de conocerlos fue corto, sé que son personas muy especiales y muy comprometidos con la Universidad.

Y a todos los que me han acompañado hasta ahora y que han sido parte importante de mi vida, esta Tesis también la dedico con mucho afecto a todos Ustedes.

Gaby

La crisis según Albert Einstein.



"No pretendamos que las cosas cambien, si siempre hacemos lo mismo. La crisis es la mejor bendición que puede sucederle a personas y países, porque la crisis trae progresos. La creatividad nace de la angustia, como el día nace de la noche oscura. Es en la crisis que nace la inventiva, los descubrimientos y las grandes estrategias. Quien supera la crisis, se supera a sí mismo sin quedar 'superado'.

Quien atribuye a la crisis sus fracasos y penurias, violenta su propio talento y respeta más a los problemas que a las soluciones. La verdadera crisis, es la crisis de la incompetencia. El inconveniente de las personas y los países es la pereza para encontrar las salidas y soluciones. Sin crisis no hay desafíos, sin desafíos la vida es una rutina, una lenta agonía. Sin crisis no hay méritos. Es en la crisis donde aflora lo mejor de cada uno, porque sin crisis todo viento es caricia. Hablar de crisis es promoverla, y callar en la crisis es exaltar el conformismo. En vez de esto, trabajemos duro. Acabemos de una vez con la única crisis amenazadora, que es la tragedia de no querer luchar por superarla."

A. Einstein

I. Índice General	i
II. Índice de Figuras.	v
III. Índice de Tablas	vii
IV. Resumen	ix

Índice General

1. INTRODUCCIÓN		1
2. MARCO TEÓRICO		4
2.1. DIETA TRADICIONAL MEXICANA		4
2.2. PANORAMA DE LA NUTRICIÓN EN LA POBLACIÓN MEXICANA		6
2.2.1. Desnutrición		7
2.2.2. Sobrepeso y obesidad		8
2.2.3. Mala Nutrición: una aproximación económica		10
2.3. LEGUMINOSAS		12
2.3.1. El Frijol		15
2.3.1.1. Origen del cultivo de frijol		17
2.3.1.2. Clasificación botánica y morfología del frijol		19
2.3.1.3. Producción y consumo de frijol		21
2.3.1.4. Composición y aporte nutrimental del de frijol		25
2.3.1.4.1. Calidad de proteína		27
2.3.1.5. Factores tóxicos y antinutricionales en leguminosas: el caso del frijol		30
2.3.1.5.1. Hemaglutininas o lectinas en frijol		31
2.3.1.5.2. Inhibidores de tripsina en frijol		31
2.3.1.6. Antocianinas en el frijol		33

2.4. DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS: ALIMENTOS TRADICIONALES COMO ELEMENTOS PARA REDUCIR LA MALA NUTRICIÓN	35
2.4.1. Aislados proteínicos vegetales	36
2.4.2. Propiedades funcionales	38
2.4.2.1. Propiedades de hidratación (interacción proteína-agua)	40
2.4.2.1.1. Solubilidad	40
2.4.2.1.2. Humectabilidad	41
2.4.2.2. Propiedades interfaciales de las proteínas	42
2.4.2.2.1. Propiedades de emulsificación	42
2.4.2.2.2. Propiedades de espumado	44
2.4.2.3. Propiedades de unión de sabor	45
2.4.3. Evaluación de nuevas formulaciones	45
3. ANTECEDENTES	47
4. JUSTIFICACIÓN	50
5. HIPÓTESIS	52
6. OBJETIVO GENERAL	53
6.1. OBJETIVOS PARTICULARES	53
7. METODOLOGÍA	54
7.1. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	54
7.2. MATERIALES Y MÉTODOS	56
7.2.1. Materia Prima	56
7.2.2. Obtención de un aislado de proteínas de frijol negro	56
7.2.2.1. Pre-tratamiento	56
7.2.2.2. Proceso original y modificaciones generales	57
7.2.3. Evaluación de la calidad microbiológica del aislado	59
7.2.3.1. Cuantificación de bacterias aerobias	59

7.2.3.2.	Cuantificación de Coliformes Totales	59
7.2.3.3.	Cuantificación de Mohos y Levaduras	60
7.2.4.	CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA.	60
7.2.4.1.	Color	60
7.2.4.2.	Granulometría	60
7.2.4.3.	Densidad	60
7.2.4.4.	Determinación de pH	61
7.2.4.5.	Análisis Químico Proximal (AQP)	61
7.2.4.6.	Determinación de Proteína por el método de Lowry	61
7.2.5.	ANÁLISIS BIOQUÍMICO	62
7.2.5.1.	Perfil de Aminoácidos y Calificación Química	62
7.2.5.2.	Actividad de Lectinas	63
7.2.5.3.	Inhibidores de Tripsina	63
7.2.5.4.	Cuantificación de Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)	64
7.2.5.5.	Extracción de pigmentos	64
7.2.5.6.	Semi-purificación	65
7.2.5.7.	Cuantificación de Antocianinas	65
7.2.5.8.	Perfil proteínico del aislado	65
7.2.6.	EVALUACIÓN FUNCIONAL	67
7.2.6.1.	Solubilidad en función del pH	67
7.2.6.2.	Capacidad de Absorción de Agua (CAAg)	67
7.2.6.3.	Humectabilidad	68
7.2.6.4.	Capacidad de Absorción de Aceite (CAAc)	68
7.2.6.5.	Propiedades emulsificantes	69
7.2.6.5.1.	Índice de Actividad Emulsificante (IAE)	69
7.2.6.5.2.	Estabilidad de la Emulsión (EE)	70

7.2.6.6. Propiedades de espumado	71
7.2.6.6.1. Capacidad de Espumado (CE)	71
7.2.6.6.2. Estabilidad de la espuma	72
7.2.7. PROPUESTA APLICATIVA: DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DEL AISLADO PROTEÍNICÓ DE FRIJOL EN FORMULACIONES DE ALIMENTOS	72
7.2.7.1. Determinación de la Calificación Química teórica (CQt) de la adición del aislado a la formulación original elegida	73
7.2.7.1.1. Panquecitos de Chocolate (prototipo de producto alimenticio 1)	73
7.2.7.1.2. Galletas de maíz (prototipo de producto alimenticio 2)	74
7.2.7.2. Elaboración de los prototipos	74
7.2.7.3. Análisis sensorial	74
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
8.1. OBTENCIÓN DE UN AISLADO DE PROTEÍNAS DE FRIJOL NEGRO	77
8.2. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AISLADO	81
8.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	82
8.3.1. Color	82
8.3.2. Granulometría	83
8.3.3. Densidad	84
8.3.4. Determinación de pH	85
8.3.5. Análisis Químico Proximal (AQP)	86
8.4. ANÁLISIS BIOQUÍMICO	88
8.4.1. Perfil de Aminoácidos	88
8.4.2. Actividad de Lectinas	91
8.4.3. Inhibidores de Tripsina	93
8.4.4. Cuantificación de Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)	95
8.4.5. Perfil proteínico del aislado	97

8.5. EVALUACIÓN FUNCIONAL	99
8.5.1. Solubilidad en función del pH	99
8.5.2. Capacidad de Absorción de Agua (CAAg)	102
8.5.3. Humectabilidad	103
8.5.4. Capacidad de absorción de aceite (CAAc)	103
8.5.5. Propiedades emulsificantes	104
8.5.5.1. Índice de Actividad Emulsificante (IAE)	104
8.5.5.2. Estabilidad de la emulsión (EE)	105
8.5.6. Propiedades de espumado	106
8.5.6.1. Capacidad de Espumado (CE)	106
8.5.6.2. Estabilidad de la espuma	107
8.5.7. Resumen de las propiedades funcionales del aislado y comparativa con otros aislados vegetales	108
8.6. PROPUESTA DE APLICACIÓN: DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DEL AISLADO PROTEÍNICÓ DE FRIJOL EN FORMULACIONES DE ALIMENTOS	112
8.6.1. Panquecitos de Chocolate	113
8.6.2. Galletas de maíz	114
8.6.3. Evaluación sensorial de los prototipos	115
9. CONCLUSIONES	121
10. RECOMENDACIONES	123
11. BIBLIOGRAFÍA	125

II Índice de Figuras

Figura 1	Prevalencias nacionales de desnutrición en menores de cinco años (%) en 1988, 1999, 2006 y 2012	8
Figura 2	Tendencias en las prevalencias de sobrepeso y obesidad en el periodo 2000 a 2012 en México para adultos mayores de 20 años	10
Figura 3	Plantas de leguminosas	13
Figura 4	Variedades del género <i>Phaseolus</i> de mayor importancia en el territorio mexicano	15
Figura 5	Nivel de consumo de alimentos en una dieta rural	16
Figura 6	Gasto en alimentos por tipo de nutrientes	16
Figura 7	Ubicación geográfica de los principales hallazgos de frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y años de antigüedad	18
Figura 8	Estructura externa e interna de la semilla de frijol	21
Figura 9	Participación mundial en la producción de frijol	22
Figura 10	Participación estatal en la producción de frijol	23
Figura 11	Producción nacional de diferentes variedades de frijol	24
Figura 12	Composición nutrimental del frijol negro	25
Figura 13	Estructura de las antocianinas en función del pH	34
Figura 14	Hipótesis sobre los posibles efectos de ingesta de proteína animal y vegetal	47

Figura 15	Estrategia experimental desarrollada para efectuar la caracterización fisicoquímica, nutricia y funcional del aislado de proteínas de frijol negro	55
Figura 16	Frijol Negro Variedad INIFAP-8025	56
Figura 17	Diagrama de flujo del proceso de aislamiento de proteínas de frijol negro en Planta Piloto desarrollado por Quiñones (2010)	58
Figura 18	Reacción producida en la cuantificación de las unidades de inhibidores de tripsina por el método enzimático de Welham & Domoney (2000)	63
Figura 19	Cabina de evaluación sensorial	75
Figura 20	Evaluación de productos	75
Figura 21	Acomodo de las triadas de productos evaluados	76
Figura 22	Comparación entre materia prima y aislados proteínicos de frijol negro	79
Figura 23	Granulometría del aislado proteínico de frijol	83
Figura 24	Aminograma mostrado como gramo de cada aminoácido por 100 gramos de muestra	88
Figura 25	Perfil de aminoácidos (aminograma) mostrado como gramo de cada aminoácido por 100 gramos de proteína de cada muestra	89
Figura 26	Pruebas para determinación de Lectinas en aislado proteínico de frijol	92
Figura 27	Electroforesis de las proteínas presentes en el frijol crudo.	97

Figura 28	Electroforesis de las proteínas presentes en el aislado de frijol negro	98
Figura 29	Curva de solubilidad del aislado de proteínas de frijol negro donde el % Solubilidad es interpretado como g de proteína soluble/100 g de aislado o g proteína soluble/100 g proteína total	99
Figura 30	Estabilidad de espuma a pH 4 producida por diferentes concentraciones de proteína en suspensión (% p/v) del aislado de proteínas de frijol negro a tiempos 1, 10, 30, 60 y 120 min y a Temperatura ambiente (21°C)	108
Figura 31	Estabilidad de espuma a pH 7 producida por diferentes concentraciones de proteína en suspensión (% p/v) del aislado de proteínas de frijol negro a tiempos 1, 10, 30, 60 y 120 min y a Temperatura ambiente (21°C)	108
Figura 32	Establecimiento del % de formulación original que debe ser mezclado con el aislado para lograr la mejor Calificación Química teórica en un panquecito (Patrones FAO/WHO/UN, 1985)	113
Figura 33	Establecimiento del % de formulación original que debe ser mezclado con el aislado para lograr la mejor Calificación Química teórica en una galleta de maíz (Patrones FAO/WHO/UN, 1985)	114
Figura 34	Evaluación sensorial de panquecitos de chocolate (con y sin aislado proteínico de frijol negro) en comparación con un panquecito comercial	118
Figura 35	Panquecito de chocolate con aislado proteínico de frijol negro	118
Figura 36	Evaluación sensorial de galletas de maíz (con y sin aislado proteínico de frijol negro) en comparación con galletas de maíz comerciales	119
Figura 37	Prototipos de galletas de maíz con y sin aislado proteínico de frijol negro	120

III Índice de Tablas

Tabla 1	Alimentos precoloniales más destacados disponibles en Mesoamérica	5
Tabla 2	Clasificación de Índice de Masa Corporal acorde con la OMS	10
Tabla 3	Suministro diario de proteína en diferentes regiones del mundo (g)	17
Tabla 4	Patrón general de referencia de aminoácidos indispensables para niños y adultos	28
Tabla 5	CQ y PDCAAS de diversas fuentes proteínicas	29
Tabla 6	Papel de las proteínas en sistemas alimenticios	39
Tabla 7	Categorización de proteínas de acorde a su solubilidad	41
Tabla 8	Parámetros para la evaluación de la Humectabilidad de fuentes proteínicas	.42
Tabla 9	Resumen de cambios metabólicos registrados por el efecto del consumo de proteína de frijol en comparación con caseína y soya	49
Tabla 10	Comparación entre procesos para obtención de aislado proteínico de frijol negro	78
Tabla 11	Calidad microbiológica del aislado en comparación con límites máximos permitidos en diversos productos	81
Tabla 12	Identificación de los aislados según la Guía de colores PANTONE®	82
Tabla 13	Densidad aparente de productos de frijol a 21°C	85
Tabla 14	Determinación de pH del aislado proteínico de frijol a 21°C	86
Tabla 15	Análisis Químico Proximal (AQP)* de frijol negro crudo, cocido y en aislado	87

Tabla 16	Comparación de aminoácidos en el aislado proteínico de frijol con los requerimientos FAO/WHO/UN para conocer su CQ y PDCAAS	90
Tabla 17	Determinación semicuantitativa de lectinas en diferentes muestras de frijol	92
Tabla 18	Determinación de inhibidores de tripsina en diferentes muestras de frijol	94
Tabla 19	Cuantificación de antocianinas en distintas variedades de frijol crudo	96
Tabla 20	Relación de aminoácidos polares y no polares en el aislado de frijol	101
Tabla 21	Capacidad de absorción de agua (CAA _g)*	102
Tabla 22	Capacidad de absorción de aceite (CAAc)	103
Tabla 23	Índice de Actividad Emulsificante (IAE) del aislado de proteínas de frijol negro con una fracción lipídica de 0.25 (aceite de maíz)	104
Tabla 24	Estabilidad de la emulsión del aislado de proteínas de frijol negro con una fracción lipídica de 0.25 (aceite de maíz)	105
Tabla 25	Capacidad de espumado (CE) del aislado de proteínas de frijol negro suspensión	106
Tabla 26	Papel de las proteínas en sistemas alimenticios (potencial del aislado de proteínas de frijol negro)	109
Tabla 27	Resumen de las propiedades funcionales del aislado de proteínas de frijol negro en comparación con aislados proteínicos comerciales	110
Tabla 28	Escala de 9 puntos de nivel de agrado	116

*"La naturaleza tiene la clave a nuestras
satisfacciones estéticas, intelectuales,
cognitivas y aun espirituales"*

Edward O. Wilson (1929-). Biólogo, investigador, naturalista y autor estadounidense

IV. Resumen

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un alimento tradicional cuyo distintivo de identidad cultural gastronómica es innegable para México.

El grupo de trabajo de la Dra. Amanda Gálvez en colaboración con distinguidos investigadores del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ha demostrado científicamente lo que nuestros antepasados conocían sobre los beneficios a la salud ligados al consumo de frijol. De manera particular, los estudios de este grupo se han enfocado en conocer el efecto del consumo de proteínas de frijol negro en el organismo, mediante el diseño de un método de extracción de dichas proteínas en el grano (aislado de proteínas) que permitió evaluarlas posteriormente en experimentación animal. Los resultados, han señalado la influencia del consumo de proteína de frijol negro en el metabolismo, donde, la regulación de la lipogénesis (reducción de la síntesis de ácidos grasos) y la nivelación de parámetros bioquímicos como glucosa e insulina, son algunos de los beneficios ligados a esta leguminosa (Quiñones, 2010; Ortiz-Huidrobo et al., 2012).

Las razones anteriores fueron la clave de inicio para mejorar la obtención del aislado de proteínas y así poder caracterizarlo íntegramente, lo cual no había sido posible en la fase previa, dadas las malas características físicas que presentaba (sólidos cristalinos insolubles en agua).

Así, el proceso de aislamiento de las proteínas de frijol negro se realizó mediante la extracción por solubilidad diferencial de las fracciones proteínicas en la semilla (globulinas, glutelinas y albúminas) con posterior precipitación isoeléctrica, recuperación de proteína, tratamiento térmico (para la eliminación de factores tóxicos y antinutricionales) y finalmente secado, este último con una destacable mejora en comparación con el proceso original lo cual permitió tener un producto visual y analíticamente más adecuado para los fines de esta Tesis.

El análisis del aislado obtenido mostró un producto en polvo con una concentración de proteínas del 72 %. A nivel nutricional, posee una baja concentración en

carbohidratos y grasas (lípidos), y un buen perfil de aminoácidos que aunque demuestra una deficiencia en metionina, es muy rico en lisina, característica que no es observada en cereales y que por lo tanto provee usos sugeridos de complementación. En cuanto a toxicidad, posee bajas concentraciones de lectinas e inhibidores de tripsina, compuestos no deseables en el frijol. En lo referente a propiedades funcionales, éstas, son altamente destacables si se considera su adición a formulaciones de alimentos dado que el aislado se mezcla fácilmente con otros polvos, absorbe casi 4 veces su peso en agua y la mitad de su peso en aceite, produce espuma estable hasta por 2 horas, facilita la formación de emulsiones, y en productos que contengan chocolate, intensifica el sabor al mismo, entre otras propiedades. Finalmente y no menos importante, posee una concentración destacada de antocianinas (antioxidantes naturales con propiedades preventivas de desarrollo de cáncer) en comparación con los frijoles cocidos de forma casera.

Con dichos precedentes, el desarrollo final de esta Tesis buscó la oportunidad de diversificar el uso del aislado mediante su aplicación en alimentos convencionales consumidos por una parte considerable de la población mexicana y que permitiera, por un lado, incrementar la cantidad de proteína del alimento, y por el otro, buscar el equilibrio ideal para obtener la mejor calidad de proteína (en combinación con la proteínas propias del alimento). De esta manera, el producto final podría ser una alternativa para diferentes nichos de mercado, entre ellos, los que contemplan a personas que no consumen suficiente cantidad de proteína o, que debido a algún impedimento, no tengan suficientes opciones para cumplir con sus requerimientos diarios de proteína, y con el objetivo de revalorizar un ingrediente de la dieta tradicional mexicana con alto valor nutrimental del que ha disminuido su consumo de forma alarmante.

Palabras clave: Nutrición, leguminosas, frijol, aislados proteínicos, formulaciones de alimentos

*“Que tu medicina sea tu alimento y
que tu alimento sea tu medicina”*

Hipócrates (460 a.C. - 370 a.C.). Médico y filósofo griego

1. Introducción

La situación actual en México, refleja una amplia disparidad social y económica que repercute en el patrón de alimentación de los distintos segmentos de la población. Desde la década de los setentas, se ha reconocido la relación que tiene el ingreso *per cápita* con la composición media de la dieta en un país y desde entonces, se ha observado que tanto en sectores poblacionales medios y altos como en países con bajo ingreso el consumo de alimentos de origen vegetal es predominante (Bourges, 2000). Una de las fuentes de origen vegetal es el grupo de las leguminosas, entre las que se encuentra el frijol.

El frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) es un cultivo que históricamente se ha asociado con el desarrollo de culturas prehispánicas, y que actualmente juega un papel primordial como cultivo tradicional en varias regiones del mundo. México, como parte de Mesoamérica, es considerado uno de los Centros de Origen y Domesticación más importantes de varios tipos de frijol, entre los que destaca por su valor comercial el *Phaseolus vulgaris L.*, especie donde se encuentra el frijol negro (CONABIO, 2013b; Acosta et al., 1996; Sánchez et al., 2001; Hernández et al., 2013).

El frijol es una fuente de carbohidratos, proteína, fibra dietética (principalmente insoluble) vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, pirodixina, ácido fólico, y algunos minerales como calcio, hierro, zinc, fósforo y potasio (FAO, 2012; Mazza, 2000). En la cascarilla de frijol, específicamente la de tonalidades intensas y/o oscuras como el negro, se pueden encontrar flavonoides tales como antocianinas, entre cuyas principales funciones, se puede mencionar la de actuar como colorantes y antioxidantes naturales, además de actuar como anticancerígenos, antitumorales y antiinflamatorios, entre otros (Garzón, 2008; Bressani, 1982; Reyes & Paredes, 1993; Prior & Wu, 2006; Wang & Stoner, 2008; Oohmah et al., 2010).

Sin embargo, el frijol también es fuente de compuestos tóxicos y antinutricionales que le restan valor a sus bondades, no obstante, un adecuado tratamiento y una óptima cocción, resultan en la disminución de los mismos y en su aprovechamiento integral (Kigel, 1999).

El interés por la caracterización del frijol surgió a partir de la observación del cambio paulatino en los hábitos de alimentación de la población mexicana y las causas y consecuencias detrás de estos. La dieta tradicional mesoamericana, predominante en nuestra población desde hace siglos y compuesta en su mayoría por ingredientes de origen vegetal, contenía como principal fuente de proteínas vegetales al binomio *maíz-frijol*. Sin embargo, el cambio progresivo hacia dietas de estilo “nórdico” u “occidental”, provocado en gran medida por la creciente disponibilidad y bajo precio de alimentos procesados (altos en azúcares y grasas), aunado a otros factores como el sedentarismo, incitaron la aparición y/o desarrollo de problemas de salud pública como sobrepeso, obesidad, enfermedades cardiovasculares y de forma aún más crítica, la influencia en el desarrollo de diferentes tipos de cáncer (Gálvez & Bourges, 2012; van't Veer et al., 2000). En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014), ha reconocido que actualmente el 60 % de las muertes totales a nivel mundial, son causadas por enfermedades crónicas como cáncer, diabetes y enfermedades cardíacas, cuya incidencia tiene una particular relación con la alimentación, por lo que, es en este sentido, que se deben enfocar nuevos estudios e investigaciones.

Con la observación anterior, el grupo de trabajo del que partió esta tesis, buscó la manera de dilucidar los beneficios que otorga el consumo de frijol y su posible influencia en el mantenimiento de la salud del ser humano. Los resultados de la investigación, hasta ahora obtenidos y a nivel de proteína de frijol, mostraron la influencia del consumo de ésta en el crecimiento adecuado de animales de laboratorio (como modelo experimental). Asimismo, se observó una regulación en la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos en el organismo), glucosa e insulina (Quiñones, 2010).

Lo anterior, motivó al grupo de trabajo a explorar esta leguminosa como una nueva fuente potencial de proteína vegetal aislada. Uno de los propósitos sería utilizar un alimento tradicional mexicano que, al combinarse con cereales, pudiera recuperar la mezcla de aminoácidos de excelencia, como se ejemplifica en la dupla tradicional maíz/frijol. Así, el aislado podría utilizarse en un módulo proteínico para crear nuevas formulaciones alimenticias que permitan obtener productos más cercanos a los actuales hábitos de alimentación adquiridos por la población mexicana.

Es importante considerar que la influencia en el desarrollo de productos alimenticios radica en el conocimiento de diversos factores sobre las materias primas tales

como: fuente(s) de obtención, disponibilidad, cantidad, calidad y biodisponibilidad de nutrimentos, presencia de factores alérgenos, antinutricionales y tóxicos, compuestos bioactivos y sobre todo, del costo. Para el caso de formulaciones de alimentos establecidas, la adición específica de un ingrediente o aditivo extra, dependerá, además, de sus propiedades funcionales para obtener productos atractivos a nivel nutrimental y sensorial.

En el mercado industrial, la gran variedad de productos obtenidos a partir de la soya, entre estos, los aislados proteínicos, son un buen indicador de la factibilidad y diversificación de uso de leguminosas en la tecnología alimentaria. En general, el empleo de leguminosas en combinación con cereales, representa una alternativa de menor costo que es equiparable, nutrimentalmente hablando, con proteínas de origen animal (desde el punto de vista de calidad proteínica). Además, la preferencia por fuentes proteínicas de origen vegetal, podría solucionar los problemas de salud y costo ambiental atribuidos a fuentes animales, y adicionalmente, podrían contribuir a aminorar el impacto de la escasez de alimento en temporadas de sequía. De manera que, el uso diversificado de frijol resultaría en el desarrollo de nuevos productos alimenticios derivados de un elemento tradicional, capaz de satisfacer requerimientos nutrimentales y estilos de vida urbanos y que, a comparación de la soya, no se le ha atribuido alergenicidad.

Por lo anterior y en resumen, el presente trabajo comprendió la mejora en la producción de un aislado proteínico de frijol negro, su caracterización microbiológica, fisicoquímica, bioquímica y funcional, para dar base a propuestas tecnológicas que podrían dar valor agregado a un cultivo tradicional mexicano: el frijol negro.

2. Marco Teórico

La cocina tradicional mexicana es un elemento fundamental de identidad cultural. El atractivo colorido de esta dieta llena de elementos, constituidos principalmente por ingredientes como maíz, frijol y chile, continua vigente en la mayor parte de la población y milenariamente ha probado su eficacia en el mantenimiento de la salud de los mexicanos. Sin embargo, esta dieta se ha ido perdiendo paulatinamente. La disminución en su preparación y consumo se debe no solo a factores como la disponibilidad de alimentos y modelos de alimentación impuestos industrialmente, sino también a factores socioculturales y una deficiente administración del tiempo de la población, en general complicados por el sedentarismo exacerbado. Estas razones exhortan a tomar medidas urgentes para salvaguardar, generar información y transmitir a las nuevas generaciones la importancia de revalorizar el consumo de la dieta tradicional mexicana (mesoamericana). Por este motivo, el Comité Intergubernamental para la Salvaguardia del Patrimonio Cultural de la UNESCO inscribió en 2010 a la Cocina Tradicional Mexicana, *primera cocina de un país aceptada por la UNESCO*, en la Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad.

2.1. DIETA TRADICIONAL MEXICANA

El aporte nutricional y cultural de los ingredientes de la cocina mexicana al mundo es muy significativo. La historia, la investigación y la oferta culinaria son hoy la prueba más concluyente del papel que México juega en la nutrición de diversas poblaciones a nivel internacional.

Históricamente, la dieta tradicional mexicana comenzó con el uso de una multiplicidad de ingredientes precoloniales disponibles en Mesoamérica (Tabla 1) como maíz, frijol, calabaza, chile, nopal, amaranto, achiote, cacao, quelites; mamíferos como venado, tlacuache, tepezcuintle, liebres y algunas aves como guajolote, codorniz, coxolilti y tepetototl, los cuales se hervían, cocían en comal, se asaban sobre brasas o se tatemaban. Posteriormente, en la época colonial y con el mestizaje, se introdujeron elementos como el arroz, avena, cebada, trigo, haba, lenteja, zanahoria, alcachofa, perejil, chícharo y caña de azúcar, así como algunas especias: pimienta, azafrán,

jengibre y canela. Así, a los ingredientes que el indígena mexicano cultivaba, se unieron los traídos por los españoles y con la combinación de ambos recursos, la cocina mexicana empezó a delinear su estilo: en lugar de gallinas, se utilizaron guajolotes; chiles en vez de pimienta; achiote para sustituir al azafrán. Este mestizaje de ingredientes significó la creación de nuevos platillos con una fusión de conceptos, combinaciones y procedimientos que terminaría delineándose con influencias como la francesa, norteamericana, austriaca y hasta inglesa (Gálvez & Bourges, 2012; Sierra, 1999; Crosby, 1997; Scott, 1997; Vargas & Casillas, 1997; Heyden & Velasco, 1997).

Tabla 1 Alimentos precoloniales más destacados disponibles en Mesoamérica

Tipo	Alimento
Semillas	Maíz, amaranto, frijol, guaje, chía, cacao, pepita de calabaza, cacahuete, mezquite, cacahuete, guamúchil y probablemente semillas de girasol y algodón
Raíces feculentas	Camote, papas silvestres, malanga, chinchayote (raíz de chayote), ayatito (lirio mariposa) y yuca
Hortalizas	Jitomate, chiles, calabacita, tomate verde o tomatillo, huahzontle, chayote, chilacayote, ejote, elote, chaya nopal, quintoniles y una enorme variedad de hojas genéricamente denominadas quelites
Flores	De calabaza, de maguey, de yuca (palma), de colorín, flor de mayo y cabuches.
Frutos	Chirimoya, guanábana, aguacate, zapotes de varios colores, xicozapote, nanche, níspero, mamey, papaya, caimito, guayaba, coco, calabaza, ciertas variedades de fresas y de ciruela, tuna, garambullo
Hongos	Huitlacoche y una amplia variedad de setas y hongos silvestres
Algas	Tecuitlatl (espirulina), amomoxtle, cupulín
Tejidos animales	De mamíferos: monos, conejos, liebre, tlacuache, venado, jabalí, zorrillo, mapache, ardilla, tuza, armadillo y diversas variedades de perros (itzcuintle) De aves: patos, guajolote, chichicuilote, paloma, loros, faisán, tórtola, perdiz, codorniz y otras de las que se usaba la carne y a veces los huevos; gran variedad de peces de mar y agua dulce, entre ellos el bagre y el blanco De reptiles: iguana, diversas tortugas de tierra y de mar, lagartos (cola) y ciertas serpientes (además de la carne, de algunos se usaban los huevos); de batracios como ranas, renacuajos, ajolotes y otros; crustáceos como camarones y acociles
Insectos	Cientos de especies, entre ellos gusanos de maguey, escamoles, chapulines, ahuaufli, moscas de agua, jumiles, hormiga mielera, hormiga chicatana y avispas (panales asados)
Condimentos	Decenas de variedades de chile, vainilla, achiote acuyo o hierba santa, cebolleta, epazote, papaloquelite, chipilín, acedera, arrayán, orejuela, azafrancillo, "lengua de vaca" e innumerables hierbas silvestres.
Edulcorantes	Miel de abejas silvestres y de hormigas, aguamiel de maguey y de caña de maíz y miel de tuna

Fuente: Gálvez & Bourges (2012). NOTA: Lista no exhaustiva

De la combinación de los recursos naturales y de la tecnología accesible, se afirmó que en la cocina mesoamericana, las combinaciones de maíz, frijol y amaranto, jugaron un papel muy importante como alimentos que proporcionaron la totalidad de aminoácidos indispensables y que las cantidades moderadas de productos de origen animal solían ser suficientes para asegurar una dieta sana (Vargas, 2002).

Desafortunadamente, con el paso del tiempo, la “modernización” de esta rica tradición mexicana en ciertos segmentos de la población, redujo la presencia en la dieta de alimentos como tortilla, frijol, frutas y verduras; y por el contrario, aumentó la presencia de productos refinados de trigo, arroz, azúcar, grasas y aceites, y productos de origen animal, estos últimos bajo el símbolo de que una buena alimentación y alto estatus social significaba comer carne diariamente. De esta forma, la idiosincrasia dejó ver al patrón mexicano tradicional como una dieta miserable y monótona, restringida por la pobreza y predominante en los sectores de ingresos más bajos de la población, que contrario a lo anterior, es una dieta ejemplar, completa, suficiente, equilibrada, excepcionalmente diversa y atractiva, producto de milenios de cultura y experiencia que en la medida, se basa en el nixtamal y el frijol y no exagera el consumo de grasas, colesterol, azúcar y productos de origen animal, por lo que tiende a ser más saludable, así como económica y ecológicamente más eficiente que otras dietas (Bourges, 2000).

2.2. PANORAMA DE LA NUTRICIÓN EN LA POBLACIÓN MEXICANA

La nutrición a lo largo del curso de la vida es una de las principales determinantes de la salud, del desempeño físico y mental y de la productividad de un individuo (Olaíz-Fernández et al., 2006). La nutrición se refiere a los mecanismos fisiológicos: digestión, absorción, transporte, asimilación y metabolismo por los que pasan los nutrimentos ingeridos en la dieta (Bourges, 2001). Una nutrición adecuada redundaría en el bienestar del individuo, motivo por el cual, el derecho a la alimentación (como parte de un nivel de vida adecuado) es integrado de la Declaración Universal de los Derechos Humanos (art. 24; ONU, 2012).

Nuestra cultura ancestral, tenía el buen conocimiento de la relación alimentación/salud y se sabía que una buena nutrición era el eje central para la vida y la salud. No obstante, los primeros estudios realizados a los alimentos desde la perspectiva

de la nutrición comenzaron hasta el siglo XX y hasta casi finales del mismo siglo, se planteó el estudio de la promoción de la salud a través de la alimentación (García, 1995; Cooper, 1996). Mientras tanto y sin embargo, la transmisión de ese buen conocimiento comenzó a perder terreno con los cambios en los estilos de vida, y desafortunadamente, el consumo cotidiano de la culinaria tradicional fue cediendo para dar paso a patrones alimentarios que provocaron el surgimiento de nuevas enfermedades relacionadas con la alimentación y sus desordenes como la desnutrición y el sobrepeso.

2.2.1. Desnutrición

La desnutrición es el resultado directo de una dieta inadecuada en cantidad o calidad, problemas en la utilización de los nutrientes por parte del organismo (absorción, metabólicos, o por una demanda exagerada), así como el efecto acumulativo de episodios repetidos de enfermedades infecciosas o de otros padecimientos. Estos factores tienen su origen en el acceso insuficiente a alimentos balanceados (nutrimentalmente), servicios de salud deficientes, saneamiento ambiental inadecuado, prácticas inapropiadas de cuidado en el hogar, problemas médicos o problemas psicológicos, entre otros (Olaíz-Fernández et al., 2006). Por lo que se refiere a la duración de la deficiencia, la desnutrición se puede catalogar en *desnutrición aguda*: bajo peso; *desnutrición crónica o desmedro*: baja talla para la edad (además de alteraciones orgánicas), y *emaciación*: bajo peso para la talla, es decir, una combinación entre las anteriores (Ávila & Shamah, 2005; Gutiérrez et al., 2012).

La desnutrición infantil es un problema persistente en todo el mundo, aunque aqueja principalmente a países económicamente desfavorecidos: cada hora 300 niños mueren a causa de la desnutrición y uno de cada tres niños y niñas que viven en países en desarrollo están desnutridos (Rawe et al., 2012). En México, aunque el problema ha disminuido, aún persiste. Las cifras de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición más reciente (ENSANUT, 2012), mencionan una reducción importante en el índice de desnutrición: 74 % para la desnutrición aguda (10.8 % en 1998 y 2.8 % en 2012), 49 % para la desnutrición crónica (26.9 % en 1988 y 13.6 % en 2012) y la casi erradicación de la emaciación (6.2 % en 1988 y 1.6 % en 2012) (Figura 1; Rivera-Dommarco et al., 2013; Gutiérrez et al., 2012).

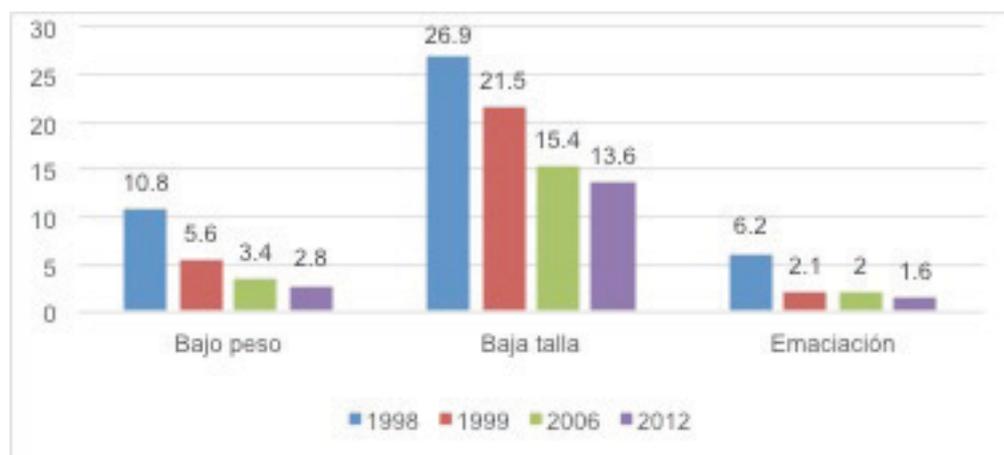


Figura 1. Prevalencias nacionales de desnutrición en menores de cinco años (%) en 1988, 1999, 2006 y 2012. Fuente: Gutiérrez et al. (2012).

La Organización Save the Children (2012) denuncia que a nivel mundial los avances en la reducción de la desnutrición han sido muy lentos en los últimos 20 años y que la combinación del cambio climático, la inestabilidad del precio de los alimentos, la inseguridad económica y los cambios demográficos los están ralentizando aún más. Una de las razones de la ineficacia y/o ineficiencia en el combate a la desnutrición radica en que no es registrada al cien por ciento en los certificados de defunción (como en el caso de México). Además, esta organización explica que para los niños que sobreviven la desnutrición, los daños a largo plazo son devastadores e irreversibles: son más vulnerables a las infecciones y enfermedades, no logran alcanzar su potencial de altura y experimentan déficits cognitivos en su desarrollo. Esto implica que su rendimiento escolar es peor y contribuyen menos a la economía. Conjuntamente, las cifras demuestran que adultos que sufrieron desnutrición cuando eran niños, perciben ingresos de alrededor de 20 % menos que una persona alimentada de forma normal. A pesar de ello, la desnutrición sigue siendo una de las principales amenazas para la supervivencia, la salud, el crecimiento y el desarrollo de las capacidades de millones de niños, así como para el progreso de sus países (Wisbaum, 2011).

2.2.2. Sobrepeso y obesidad

El sobrepeso por su parte, es el resultado de un desequilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético del cuerpo, a consecuencia del consumo de dietas con alta densidad energética, alimentos bajos en fibra y bebidas azucaradas en

exceso, en combinación con una escasa actividad física. Esta última asociada primordialmente a la urbanización, a la falta de seguridad en las calles, al crecimiento económico y a los cambios en la tecnología para la producción de bienes y servicios, así como a los estilos de vida y de recreación (Olaíz-Fernández et al., 2006). La persistencia prolongada de factores que incitan el sobrepeso, puede traer sin duda la aparición de obesidad y en conjunto, constituyen factores de riesgo para numerosas enfermedades crónicas, entre las que se incluyen la diabetes, enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer (OPS, 2013).

Contrario a la desnutrición, los problemas de sobrepeso y obesidad aquejan mayoritariamente a países desarrollados y economías emergentes como México, los cuales reconocen que la elevada incidencia, ha provocado una “epidemia” reconocida como un nuevo problema de salud pública relacionado con el exceso en la ingesta de alimentos, particularmente aquellos con un elevado contenido de grasas y azúcares.

En 1980, menos de una persona por cada diez era obesa. Desde entonces y a la fecha, las cifras se han duplicado o triplicado de tal forma que en 19 de los 34 países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), la mayor parte de la población padece sobrepeso u obesidad (OCDE, 2012). En México, el escenario es el peor. De acorde a datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013), México ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad tanto en niños como en adultos. La ENSANUT 2012 por su parte, recalca que la prevalencia de exceso de peso (sobrepeso más obesidad) en niños en edad escolar (5 a 11 años) es en promedio del 34.4 %; en población de 12 a 19 años del 31.9 % y en población de 20 años o más, el promedio es del 71.2 % (48.6 millones de personas), es decir, 7 de cada 10 adultos presentan sobrepeso u obesidad y las mujeres son las más afectadas (Figura 2). Estas cifras denotan porqué las tres primeras causas de muerte en México son en orden descendiente: la diabetes, enfermedades isquémicas del corazón y enfermedades cerebro-vasculares (SINAIS, 2012); todas ellas ligadas con malos hábitos de alimentación. La buena noticia es que estas enfermedades crónico-degenerativas pueden prevenirse con una dieta correcta y actividad física adecuada, aun en presencia de predisposición genética. En este sentido, el Índice de Masa Corporal (IMC) creado por la OMS, puede ayudar a conocer de forma general pero robusta, el estado nutricional general:

el cálculo se realiza al dividir el peso (en kilogramos) entre el cuadrado de la talla (en metros) y el resultado se contrasta con la Tabla 2.

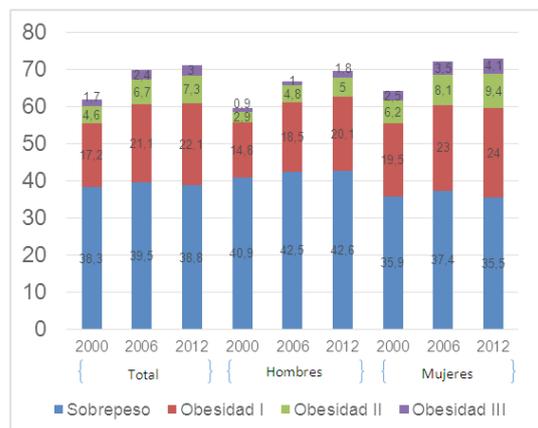


Figura 2. Tendencias en las prevalencias de sobrepeso y obesidad en el periodo 2000 a 2012 en México para adultos mayores de 20 años. Fuente: Gutiérrez et al. (2012).

Tabla 2

Índice de Masa Corporal (IMC) según el estado nutricional de las personas

	<u>IMC</u>
Desnutrición	<18.5
Normal	18.5-24.9
Sobrepeso (pre-obesidad)	25-29.9
Obesidad I	30-34.9
Obesidad II	35-39.9
Obesidad III	<40

Tabla 2. Rangos de Índice de Masa Corporal y su clasificación según la OMS (2006).

2.2.3. Mala nutrición: una aproximación económica

La mala nutrición es un término empleado para designar a la problemática que envuelve tanto los trastornos nutricionales por desequilibrios y excesos como a las deficiencias alimenticias. Frecuentemente, el anglicismo malnutrición (el cual es gramaticalmente incorrecto al conjuntar un sustantivo y un adverbio), se utiliza como sinónimo de desnutrición e induce a errores conceptuales (Ávila & Shamah, 2005), por lo que es importante conocer el contexto del tema para decidir las circunstancias de uso de los términos correctos.

Desde el punto de vista económico, la mala nutrición en la población reduce el producto interno bruto (PIB) entre el 3 y el 6 % (Rawe et al., 2012) y particularmente, la desnutrición lo reduce entre un 0.2 y 4.7 % dependiendo de las regiones y países (Arcand, 2001); además, cuesta billones de dólares en términos de pérdida de productividad, gastos en cuidados sanitarios y adicionalmente reduce el impacto de las inversiones en los servicios de salud básica. Tan solo en 2008, los costos atribuibles a la obesidad en México fueron de 42 000 millones de pesos, equivalente a 13 %

del gasto total en salud (0.3 % del PIB; Gutiérrez et al., 2012). Es por esto, que el impacto de las inversiones en el área de nutrición debería considerarse a largo plazo en la economía, puesto que ayuda a que las inversiones realizadas en otros sectores sean más efectivas. Sin embargo, a pesar de lo anterior, la nutrición raramente es considerada como una oportunidad para el crecimiento y prosperidad nacional.

Una muestra de la relación existente entre la nutrición, la salud y el crecimiento económico, es descrita por Fogel (1991, 1994a, 1994b), cuyos estudios basados en estas relaciones a largo plazo, lo hicieron acreedor al Premio Nobel de Economía en 1993 al encontrar que más de la tercera parte del crecimiento económico de Inglaterra en los últimos 200 años podía atribuirse a mejoras en la alimentación. Otro dato interesante observado a largo plazo en todos los países hoy desarrollados, relaciona las mejoras en la alimentación con la estatura media de sus habitantes en un proceso conocido como la “transición de la estatura media”. La importancia de esta transición reside en que la estatura media es un indicador (indirecto pero robusto) de las mejoras en la nutrición y la productividad de los habitantes. A nivel internacional, la evidencia muestra que cada centímetro adicional en la estatura adulta media de la población está asociado a un incremento promedio de 6 % en el ingreso per cápita. Un ejemplo destacado es el caso de Corea del Sur donde en el lapso de una generación (1962 a 1995) la estatura media de la población aumentó de 1.66 m a 1.80 m, proceso que estuvo acompañado de un incremento de 78 % en el ingreso per cápita (CMMS, 2006).

La asociación positiva entre salud y prosperidad también se observa en el caso de México. Mayer-Foulkes (2001) sugirió que la salud es responsable de aproximadamente un tercio del crecimiento económico (potencial) en el periodo 1970-1995. Sin embargo, México tiene todavía por delante el generar las mejoras en la nutrición promedio que pueden llevar a un nivel más elevado del ingreso per cápita.

La mala nutrición tiene causas complejas que involucran determinantes biológicos, socioeconómicos y culturales y los datos encontrados en la literatura muestran claramente que el patrón actual de alimentación en el mexicano promedio es deficiente. Así, hoy en día no es raro encontrar en una misma familia la coexistencia de preescolares desnutridos por un lado y por el otro, escolares y adultos con sobrepeso u obesidad; condición observada cada vez con mayor frecuencia en familias de bajo ingreso (Peña & Bacallao, 2000), y aunque existe una mayor

conciencia de la importancia de mantener la salud y prevenir enfermedades, esto no redundaría todavía en una mejora del estado nutricional de las poblaciones.

Además, vivimos en un momento de la historia de la Humanidad en el que existen recursos y conocimientos suficientes para acabar con el hambre y la pobreza. No hay escasez de alimentos. En el mundo hay suficiente comida para que toda la población pueda alimentarse adecuadamente; sin embargo, se desperdicia entre un 30 % y un 50 % de todo el alimento que se produce, y en los países desarrollados se calcula que se desperdicia alrededor de una cuarta parte de la comida que compran las familias (Oxfam, 2011).

Dados los argumentos anteriores, está claro el papel que tenemos en la búsqueda y mejora de las opciones de alimentos disponibles y en la que facilitemos la producción, distribución, venta y consumo racional de productos bajos en azúcares y lípidos, y altos en proteínas de buena calidad, económicas, ecológicas y accesibles. Una de estas opciones a investigar es, sin duda, el grupo de las proteínas vegetales, donde se ubican las leguminosas.

2.3. LEGUMINOSAS

- **Definición**

La palabra leguminosa se deriva del latín *legumen*, que significa semillas cosechadas en vainas. Se les llama leguminosas a aquellas especies pertenecientes a la familia botánica de las Fabáceas (Papilionáceas en la sistemática clásica), y a su vez a las fanerógamas, plantas que se caracterizan por producir frutos en forma de vainas llamadas legumbres, las cuales se abren longitudinalmente en dos valvas dentro de las que coexisten en una hilera ventral, una o más semillas; dicha característica es la más representativa dentro de su identificación visual (Aykroyd & Doughty, 1982; Bourges, 1987).

Las leguminosas tienen la capacidad de asociarse con las bacterias del género *Rhizobium*, las cuales forman nódulos en las raíces de las plantas. La simbiosis creada, provoca que la leguminosa proporcione a la bacteria hidratos de carbono, que le sería difícil obtener independientemente, y en contraparte, la leguminosa utiliza el nitrógeno atmosférico fijado por la bacteria (conversión a amoníaco en el ciclo del

nitrógeno) para su desarrollo (López, 1993). De esta forma, las leguminosas pueden sintetizar aminoácidos y acumular cantidades elevadas de proteína sin necesidad de fertilizantes nitrogenados (Bourges, 1987). Este beneficio, además, hace del cultivo de las leguminosas un medio que permite mantener nutrida la tierra por lo que ayuda a conservar la fertilidad del suelo, sobre todo en asociación de cultivos (FAO, 1996).

- **Importancia en la alimentación**

Las leguminosas resultan de gran interés agrícola por el empleo de sus semillas en la alimentación animal y humana, debido principalmente a su alto contenido en proteínas. En el ámbito industrial, específicamente en la tecnología alimentaria, el procesamiento de leguminosas y cereales es uno de los más antiguos y su industria es tan diversa como su gama de productos (Tiwari et al., 2011).

El cultivo de las leguminosas es de gran importancia a nivel mundial. La familia comprende uno de los grupos más extensos en cuanto a número de especies. Existen alrededor de 19,400 especies de leguminosas, de las cuales alrededor de 50 son de importancia alimenticia (Deshpande & Deshpande, 2011; CONABIO, 2013b).



Figura 3. Plantas de leguminosas. De izquierda a derecha: ejotes (frijol; tomada de CONABIO, 2013a), alfalfa y jícama.

Dentro de las especies más conocidas, se pueden mencionar el frijol común (*Phaseolus vulgaris*), el garbanzo (*Cicer arietinum*), la lenteja (*Lens esculenta*), la soya (*Glycine max*) y el chícharo (*Pisum sativum*). Según la especie de leguminosa, se pueden utilizar sus vainas inmaduras (ejotes), semillas maduras o inmaduras (haba, frijol), las hojas (alfalfa) e inclusive las raíces (jícama) (Figura 3; Aykroyd, 1977).

- **Composición nutrimental**

Los granos de leguminosas poseen una alta proporción de hidratos de carbono (35-70 %), bajo contenido en grasas (1-2 %), alto porcentaje de proteínas (>18 %), fibra (5-10 %) y micronutrientes como minerales y vitaminas (Deshpande & Deshpande, 2011, USDA, 2010e; Muzquiz et al., 2006).

En cuanto a los hidratos de carbono, la fracción mayoritaria corresponde al almidón (hasta un 60 % del total), seguido de una fuente importante de fibra (2-13 %), sobre todo insoluble ya que la celulosa y hemicelulosa son los principales componentes encontrados (Slavin, 1987), y cuenta además con destacadas concentraciones de oligosacáridos de la familia de la rafinosa (30-80 % del porcentaje restante).

Los lípidos, por su parte, representan un bajo nivel de concentración (salvo el caso de la soya que contiene aproximadamente un 35 %). Las leguminosas son ricas en ácidos grasos insaturados (55-57 % del total de lípidos), siendo mayoritarios los ácidos oleico, linoleico y linolénico.

Por otra parte, el alto contenido proteínico de los granos y semillas varía según la especie y variedad: desde un 17 y hasta un 35 %. El perfil de aminoácidos de cada variedad ha sido ampliamente estudiado y se sabe que cuentan con un bajo contenido de aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), y un alto contenido de lisina, aminoácido del que son marcadamente deficientes los cereales. Por este motivo, las leguminosas se convierten en el acompañante ideal de los cereales estableciendo así una complementariedad proteínica ideal.

- **Complementariedad de proteínas (aminoácidos)**

La complementariedad de proteínas se presenta cuando se consumen en una misma comida, dos alimentos (o ingredientes) cuya composición de aminoácidos es, en uno de ellos, limitada por un aminoácido indispensable; del cual el otro ingrediente es rico y viceversa. Este evento no se presenta si las proteínas se consumen en momentos diferentes, ya que el cuerpo tiene poca capacidad de almacenar aminoácidos sobrantes y los utiliza como fuente de energía. Por ejemplo, las proteínas de cereales como maíz y trigo, se caracterizan por su deficiencia en lisina y por su riqueza en

aminoácidos azufrados; por el contrario, el frijol se caracteriza por su deficiencia en aminoácidos azufrados y triptófano y su riqueza en lisina, lo cual traduce que al consumir, por ejemplo, un taco de frijol, se logre una buena complementación (Beattie & Champion, 2012; Champ, 2002; Gálvez et al., 2013).

2.3.1. El Frijol

El cultivo del frijol, representa una tradición productiva y de consumo milenario que ha permanecido a lo largo del tiempo. Esta semilla ocupa un lugar importante en la economía agrícola de México, tanto por la superficie que se le destina, como por la derrama económica que genera. En conjunto con el maíz, constituyen la dieta básica del pueblo mexicano y en consecuencia son los productos de mayor importancia socioeconómica.

México, posee la mayor diversidad del género *Phaseolus*, dentro de la cual el frijol común, *Phaseolus vulgaris*, es el de mayor importancia agronómica y económica debido a que se cultiva en todos los estados del país y ocupa el 95 % de la superficie destinada al frijol. Le siguen en importancia otras variedades como el frijol ayocote (*Phaseolus coccineus*), el frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) y el frijol lima (*Phaseolus lunatus*), aunque el cultivo no se limita a ellas y se rige principalmente de los hábitos de consumo de cada región (Figura 4; Financiera Rural, 2011).



Figura 4. Variedades del género *Phaseolus* de mayor importancia en el territorio mexicano. De izquierda a derecha: ¹*Phaseolus vulgaris*, ¹*Phaseolus coccineus*, *Phaseolus acutifolius* y ¹*Phaseolus lunatus*. (1) Fotos tomadas de CONABIO, 2013a.

De acorde con datos de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares, el frijol se encuentra dentro de los 20 productos de mayor frecuencia de consumo en cualquiera de los estratos sociales. No obstante, existen diferencias entre el lugar que

ocupa el frijol en una dieta rural en comparación con una urbana (Martínez & Villezca, 2003). En una dieta rural, por ejemplo (Figura 5), predomina la dieta compuesta por el binomio maíz-frijol, el cual constituye el 80 % de los alimentos consumidos y los cuales se complementan con jitomate, nopal y chile, entre otros; además, se destaca su bajo consumo de azúcar y aceite (Muñoz & Chávez, 1998; FAO, 2000).

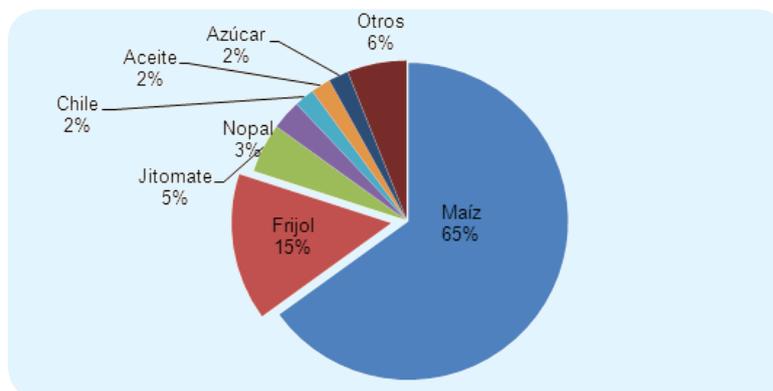


Figura 5. Nivel de consumo de alimentos en una dieta rural. Fuente: Muñoz & Chávez (1998).

En contraste, en una dieta urbana las diferencias de consumo son innegables. Y es que, aunque existe una mayor diversidad de alimentos disponibles, el gasto directo de éstos, representa un desequilibrio nutricional evidente guiado por el consumo de proteínas de origen animal, seguido de carbohidratos y grasas, vitaminas y minerales, y finalmente, proteínas de origen vegetal (Figura 6).

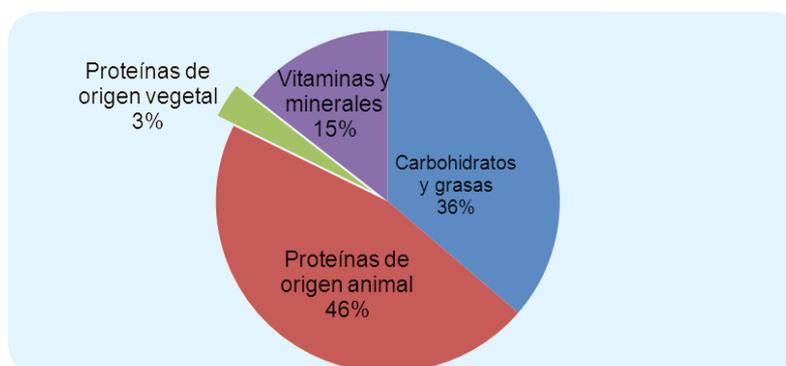


Figura 6. Gasto en alimentos por tipo de nutrientes. Fuente: ENIGH-INEGI (2012). Datos expandidos conforme a estimaciones de población del CONAPO actualizadas en abril de 2013.

La diferencia entre la cantidad de proteína ingerida y su origen, se ha observado a lo largo del tiempo mediante el suministro diario de proteína que existe en diferentes regiones del mundo, entre ellas Latinoamérica (Tabla 3).

Tabla 3 Suministro diario de proteína en diferentes regiones del mundo (g)

Región	Proteína de origen animal			Proteína de origen vegetal		
	2007	1980	1961	2007	1980	1961
Europa Occidental	65.6	66.65	49.49	0.86	0.9	1.08
Europa Oriental	49.25	51.32	36.04	1.14	1.98	2.2
América del Norte	71.71	65.78	62.62	2.95	1.86	2.31
Latinoamérica	31.86	27.17	22.52	6.68	5.66	6.14
África	13.41	12.42	10.55	6.75	5.78	5.54
Asía	23.39	10.74	7.24	5.4	5.74	9.24
Promedio mundial	29.81	23.44	19.62	5.22	5.03	6.82

2.3.1.1. Origen del cultivo de frijol

Nuestros antepasados fueron cazadores-recolectores durante más de un millón de años y particularmente durante el periodo de 3000 a 8000 años a. C., aparecieron las primeras sociedades humanas sedentarias capaces de producir sus alimentos, por lo que comenzaron a domesticar una gran variedad de plantas y animales en diferentes regiones del mundo, entre ellas Mesoamérica y los Andes, en el continente Americano (Smith, 2006; Zizumbo & Colunga, 2010). La domesticación de plantas y animales contribuyó a la llamada “La Revolución Neolítica” que marcó un punto importante en la historia del hombre pues la agricultura se convirtió en la base de la economía y el frijol rápidamente formó parte de ella (Hernández et al., 2013).

Los estudios arqueológicos, morfológicos, agronómicos, bioquímicos y moleculares indican que el frijol común, es originario del continente americano. Se han encontrado evidencias, con antigüedad de hasta 8000 años de que los frijoles comunes se

domesticaron de manera independiente por lo menos en dos áreas separadas: Mesoamérica y la América andina. Sin embargo, generalmente se acepta que el principal Centro de Origen del género *Phaseolus* fue Mesoamérica, particularmente en el occidente y sur de México (desde Jalisco hasta Oaxaca), y que hubo dos Centros de Domesticación: uno primario (Mesoamérica) y otro secundario en el Sur Andino (Hernández et al., 2013; Voysest, 2000).

El planteamiento de México como Centro de Origen y Diversificación (COD), responde al hecho de que en México, se han identificado 47 de las 60 especies clasificadas en este género, además de encontrar prototipos de especies silvestres de los cinco grupos más cultivados, entre ellos *P. vulgaris* (Paredes et al., 2006; Debouck, 1986). La Figura 7, muestra la ubicación geográfica de los principales hallazgos de frijol común y su posible antigüedad.

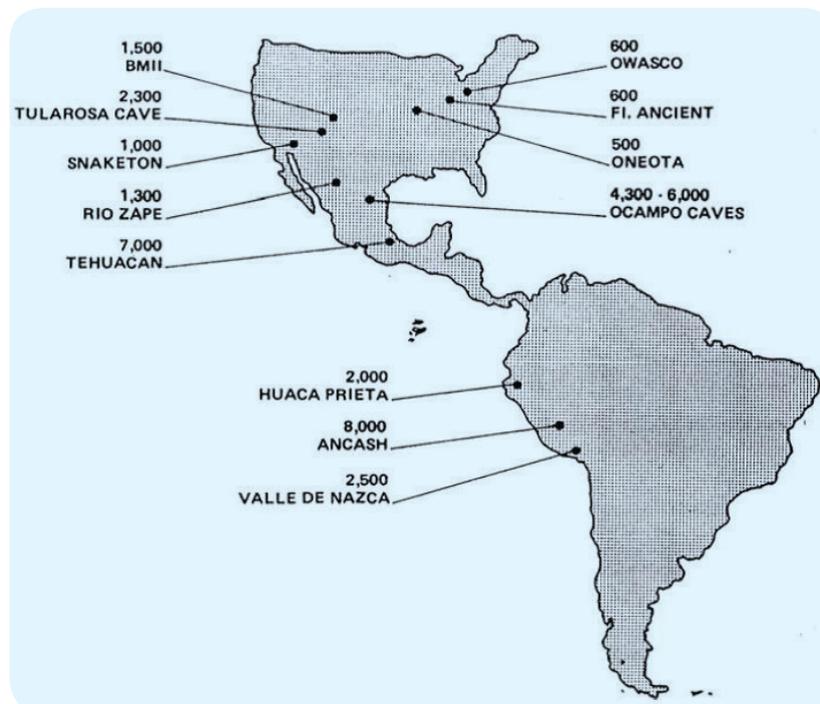


Figura 7. Ubicación geográfica de los principales hallazgos de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y años de antigüedad. Fuente: Debouck & Hidalgo (1985).

Debouck & Hidalgo (1985) y Voysest (2000), estiman que la leguminosa fue domesticada y cultivada antes de la época precolombina y que fue introducida en Europa por Cristóbal Colón, motivo por el cual, su uso y consumo comenzó a diversificarse en otros continentes.

Es importante remarcar que Europa y África, cuentan con una parte considerable del germoplasma del frijol común (15 y 10 % respectivamente), sin embargo, la mayoría (30 %), lo resguarda el continente americano, particularmente el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Colombia, del cual se ha repatriado a México prácticamente su totalidad con fines de recuperación de variedades, investigación y fitomejoramiento (Debouck, 1986, Acosta et al., 1996; Rosales et al., 2003).

2.3.1.2. Clasificación botánica y morfología del frijol

El frijol, pertenece a la familia de las leguminosas o fabáceas. Se le conoce con diferentes nombres como frijol, poroto, alubia, caraota y judía. En náhuatl se les llama *etl* o *etle*. El género *Phaseolus*, se clasifica dentro de la familia *Leguminosae*, subfamilia *Papilionoidae*, tribu *Phaseolae* y subtribu *Phaseolinae* (CONABIO, 2013b; Debouck & Hidalgo, 1985), de las que de las dos últimas, se obtuvo el nombre de la principal proteína presente en el frijol: faseolina.

Actualmente, no se cuenta con suficiente claridad sobre el número de especies del género *Phaseolus*, debido en gran medida a que muchas de ellas son parte de variedades silvestres y muchas otras aun no son sometidas a investigación. Sin embargo, Miranda (1987), mencionaba que podría haber alrededor de 150 especies y que en México, pudieran estar concentradas 50 de ellas (47 de las cuales ya se han identificado), lo cual CONABIO (2013b) ha confirmado.

Por otra parte, en cuanto a la morfología, la clasificación se basa en el estudio de las marcas externas visibles (macroscópica y microscópicamente) que componen cada órgano en una especie. Estos caracteres se agrupan en constantes y variables: los constantes son aquellos que identifican la especie o la variedad y generalmente son de alta heredabilidad; los variables, por otro lado, reciben la influencia de las condiciones ambientales y pueden ser considerados como la resultante de la acción del medio ambiente con el genotipo (Herrera et al., 2005).

Las plantas del frijol son hierbas rastreras y trepadoras que pueden llegar a medir de 50 a 70 cm de altura. Cuenta con raíces bien desarrolladas y tallos delgados y débiles. El color de sus flores tiene tonalidades rosas, lilas y violetas. Sus semillas,

lo que conocemos como frijol propiamente, tiene forma de riñón: son reniformes de oblongas a ovals o redondeadas, poco comprimidas y crecen en una vaina comestible como legumbre (ejotes, del náhuatl *exotl*; CONABIO, 2013b).

- **Estructura externa**

Las estructuras más importantes de la planta de frijol son su raíz, hojas, fruto o legumbre y semillas. Una semilla usualmente consta de un eje embrionario, tejidos nutritivos y cubiertas. La forma, el tamaño, la textura, la consistencia y el color de estas partes son variables según las especies y variedades y aun entre lotes de semillas iguales (Financiera Rural, 2011). Las partes que componen a la semilla externamente (Figura 8) son:

- a) Testa o cubierta.- Capa secundaria del óvulo, la cual es dura, seca y usualmente lisa. Está formada por una cutícula delgada que cubre un área de células prismáticas contiguas denominadas palizada de células
- b) Hilum.- Conecta la semilla con la placenta
- c) Micrópilo.- Abertura en la cubierta cerca del hilum. A través de esta abertura se realiza principalmente la absorción de agua
- d) Rafe.- Proveniente de la soldadura del funículo con los tegumentos externos del óvulo (CIAT, 1984).

- **Estructura interna**

Por otra parte, las partes internas de la semilla de frijol se encuentran distribuidas en: embrión, dos hojas primarias, hipocótilo, dos cotiledones y la radícula. El complejo plúmula-radícula está situado entre los dos cotiledones, a un lado del grano contra la testa, de tal manera que la radícula está en contacto con el micrópilo y la plúmula está encerrada hacia el interior del grano.

En el grano seco, los cotiledones exhiben una estructura altamente organizada. Contiene células con gránulos de almidón embebidos en una matriz proteínica consistentes de cuerpos proteínicos y gránulos de aleurona.

Los cuerpos proteínicos son generalmente esféricos y relativamente menores que los gránulos de almidón y están rodeados por una membrana lipoproteica.

Con base en la materia seca, la testa representa el 9 %, los cotiledones un 90 % y el 1 % restante es el embrión de la semilla entera (Figura 8; CIAT, 1984).

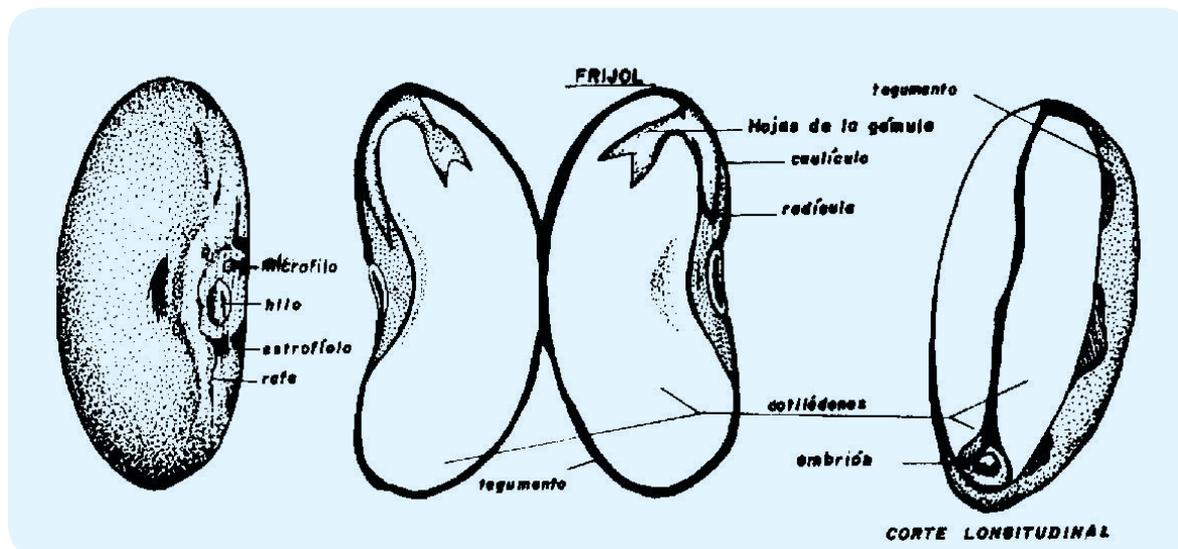


Figura 8. Estructura externa e interna de la semilla de frijol. Fuente: CIAT (1984).

La temperatura ideal para el desarrollo de este cultivo oscila entre 10 y 27 °C, esta característica permite agruparla en las denominadas especies termófilas dado que no soporta bajas temperaturas. La planta es muy susceptible a condiciones extremas como el exceso o la falta de humedad, por lo que suelen sembrarse en suelos de textura ligera, bien drenados y al final de la temporada de lluvias (Debouck & Hidalgo, 1985). El frijol se siembra y cosecha en los dos ciclos del año agrícola (cultivo cíclico), aunque los mejores meses de cosecha son febrero y noviembre (Financiera Rural, 2011).

2.3.1.3. Producción y consumo de frijol

Dentro del rubro de las leguminosas, el frijol es la especie más cultivada y consumida en África, India, México y en varios países de América Central y Sudamérica. En estas regiones forma parte de la dieta de las poblaciones, siendo su consumo mayoritariamente en forma de grano integral (Leterme & Muñoz, 2002). Sin embargo, dado su alto valor nutrimental, su uso debería diversificarse a través de su utilización como ingrediente para el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Granito et al., 2009).

- **Producción Mundial y Nacional**

El frijol se cultiva y consume prácticamente en todo el mundo. A pesar de lo anterior, son pocos los países que dedican porciones importantes de tierra para su siembra y cosecha. De acuerdo con información de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2013b), a nivel global se destinan alrededor de 29.3 millones de hectáreas (Ha) al cultivo de frijol, de las que India posee la porción mayoritaria de 31 % (9.1 millones), mientras que México posee únicamente el 5.3 % (1.5 millones). En este sentido, México ocupa el cuarto lugar de superficie destinada a este cultivo y en general, es el tercer lugar, si se considera que la cifra correspondiente a la India no solo se refiere al frijol común, sino que incluye muchas otras especies que se consumen en ese país y la parte correspondiente al género *Phaseolus* es una cantidad menor al 5 % de la cifra indicada (Singh, 1999).

Por lo que se refiere a la cantidad de frijol producido en toneladas (T), las principales regiones productoras en el mundo son América Latina, África y Asia. En este sentido, los primeros países productores son: Myanmar (3,900,000 T), India (3,630,000 T) Brasil (2,794,854 T), China (1,450,000 T), Estados Unidos (1,448,090 T), Tanzania (1,199,267 T) y México (1,080,857 T), (Figura 9; FAO, 2013b). Sin embargo, aunque estos siete países citados contribuyen al 66 % de la producción total mundial, Myanmar, China y Estados Unidos cultivan el frijol principalmente con fines de exportación, mientras que la India, Brasil, México y Tanzania, lo hacen para satisfacer la demanda nacional.

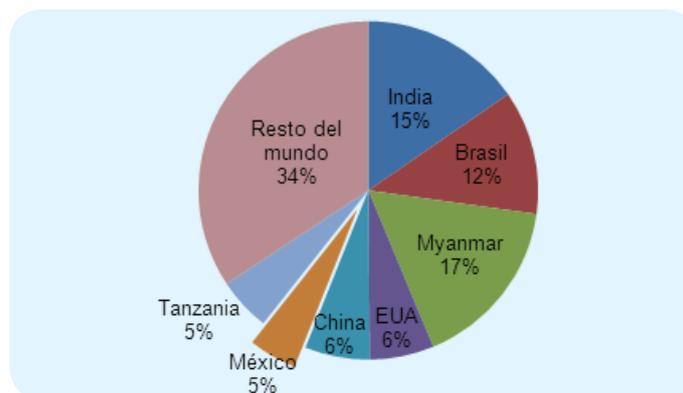
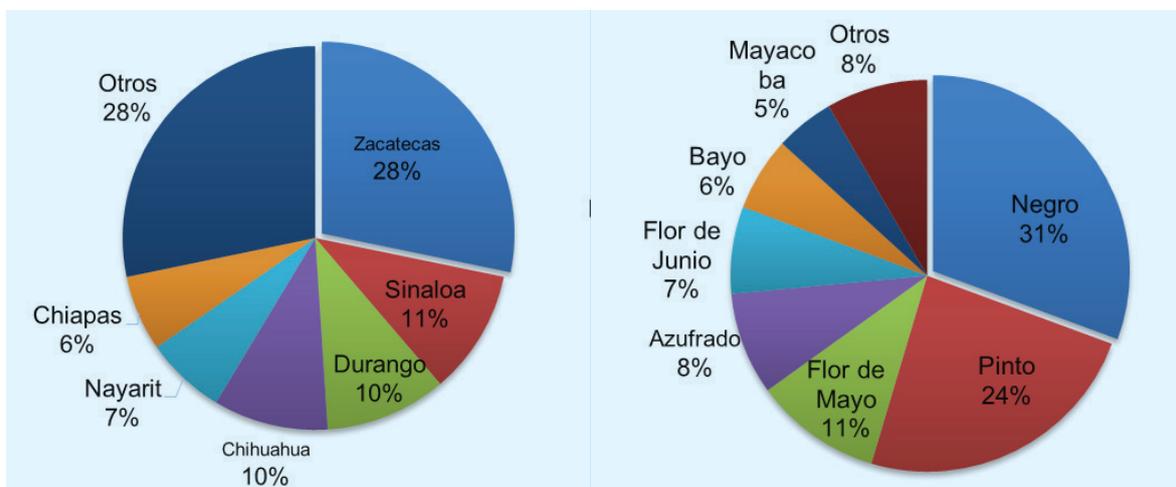


Figura 9 .Participación mundial en la producción de frijol. Fuente: FAO (2013b).

Por otra parte, a nivel nacional, la producción de frijol en México ha variado considerablemente. En las décadas de los 70's y 80's, el frijol se encontraba en el top 20 nacional de producción de alimentos cultivados, del cual a la fecha ha salido.

En el año de 1980, la producción nacional anual era de alrededor de 0.93 millones de toneladas, muy similar a los datos más recientes (2012), de 1.08 millones, lo cual indica que aunque la producción ha subido, la relación en contraste con el crecimiento de la población mexicana no es comparable. Además, la superficie sembrada de frijol ha presentado una tendencia a la baja a partir de 1990, aunque con una mejora en rendimiento de toneladas por hectárea (T/Ha): en 1990, la superficie sembrada promedio fue de 2.27 millones de Ha, en 2000 de 2.12 millones de Ha y en 2012 de 1.7 millones de Ha, con un rendimiento respectivo de 0.62, 0.59 y 0.69 T/Ha (SIAP, 2012).

La producción de frijol en sus diferentes variedades, se concentra en los estados del norte-occidente del país. Zacatecas es la principal entidad productora de frijol, con una participación del 28 %, seguida de Sinaloa con el 11 %, Durango con 10 %, Chihuahua con 10 % y Nayarit 7 %. Estas entidades generan un volumen de producción de 775 mil toneladas de frijol lo que representa el 72 % del total nacional. Chiapas es la única entidad del sur-sureste con una importante participación en la producción de 6 % (Figura 10; SIAP, 2012).



Figuras 10/11. Participación estatal en la producción de frijol y Producción nacional de diferentes variedades de frijol. Fuente: SIAP (2012).

Finalmente, de acorde con datos del SIAP (2012), la producción de frijol en sus diferentes variedades, se encuentra liderada por el frijol negro (San Luis, Jamapa, Querétaro, San Luis, Zacatecas, Veracruz y otros negros no clasificados), seguido por las variedades pinto (Americano, Nacional y Saltillo), Flor de Mayo, Azufrado, Flor de Junio, Bayo, Mayacoba y otros (Figura 11).

- **Consumo Mundial y Nacional**

Dos de los principales países productores de frijol, India y Brasil, son los mayores consumidores de esta leguminosa debido a que concentran el 23.3 y 19.3 % de consumo global, respectivamente. También destaca México, que participa con el 7.3 % y Estados Unidos con el 6.1 % del consumo. Con relación al consumo per cápita, éste reporta un mayor consumo en países de bajos ingresos y economías emergentes, y existe una tendencia estable durante la última década, siendo en 2010 para Nicaragua de 19 kg por persona al año, 16 kg en Brasil; 11 kg en México y 3 kg en Estados Unidos (impulsado por la población de origen hispano). Otros países que, lejos de su cultura, reportan consumo de frijol, aunque bajo son Alemania, Reino Unido, Francia, Italia y Japón, en los que no se supera los 2 kg por persona al año (Financiera Rural, 2011).

A nivel nacional el consumo de frijol está determinado por sus características sensoriales: 43.4 % considera muy importantes el color, el olor después de cocinarse, el sabor, el tiempo de cocción y al tiempo de duración en el anaquel al momento de obtener el producto. Siguen, en orden de importancia, las características físico-químicas: 23.6 % de acuerdo a la frescura, la humedad y el tamaño, y las de conveniencia: 26.2 % por la durabilidad después de cocinarse y por la facilidad en su preparación. En este sentido, las preferencias del consumidor mexicano han agrupado las variedades de frijol de acuerdo con su color en: negros, amarillos, blancos, morados, bayos, pintos y moteados. Así, el 77.2 % de los consumidores que demandan el frijol grano (22.8 % lo demanda industrializado), 35.8 % prefiere los de color negro, sobresaliendo el Jamapa y el Veracruz; 26.6 % prefiere los de color claro, destacando el peruano y los flores de mayo y junio; y 14.8 % prefiere los pintos, nacionales o americanos (Rodríguez-Licea et al., 2010). Sin embargo, estas preferencias varían en las diferentes zonas del país: en el centro y el sur, la demanda se centra en variedades negras, mientras que la zona norte del país prefiere variedades pintas o azufradas/amarillas (Rodríguez-Licea et al., 2010, SIAP, 2012; Financiera Rural, 2011; ASERCA, 2007; Castellanos et al., 1997).

Por otro lado, los cambios en las tendencias de consumo, así como en la demanda, se han visto reflejados en el decaimiento de consumo nacional de frijol per cápita a través del tiempo: en los años sesenta fue de 18.45 kg por persona por año, en

los ochenta de 15.75 kg, en los noventa 13.0 kg, en el 2000 de 11.0 kg, en 2010 de 10.7 kg, y estimaciones de 2013, mencionan que pudo haber reducido hasta 10.2 kg, es decir una disminución de 1960 a 2013 del 45 % (SIAP, 2013; CONAPO, 2014; Rodríguez-Licea et al., 2010).

Aun así, México presenta un déficit en producción debido principalmente a la liberación del precio y apertura de fronteras, lo que ha estimulado la saturación del mercado con producto importado (México es el séptimo importador a nivel internacional; FAO, 2013a), que a su vez provoca el desplazamiento de la producción nacional (Financiera Rural, 2011). Lo anterior, ha promovido una disminución en el deseo y necesidad de su cultivo, lo que aunado al cambio climático y a la demanda decreciente de compra de frijol, ha incidido de forma negativa en el cultivo, venta y consumo nacional.

2.3.1.4. Composición y aporte nutrimental del de frijol

El frijol, es un grano con un buen valor nutrimental. En general, cada 100 gramos de frijol contiene de 14 a 33 g de proteínas, de 1.5 a 6.2 g de lípidos, de 52 a 76 g de carbohidratos (de los cuales de 5 a 25 g son de fibra dietética y de 2 a 5 g son de azúcares fermentables), de 2 a 5 g de minerales (entre ellos Potasio, Fósforo, Calcio, Hierro, Sodio y Selenio) y menos de 1 g de vitaminas, entre ellas, Vitamina C, Niacina, Colina, Vitamina K y Vitamina E (USDA, 2010e; Ulloa et al., 2011). Particularmente, el frijol negro –*el más consumido y cultivado en México*–, cuenta con la presencia y concentración de los siguientes nutrimentos (Figura 12).

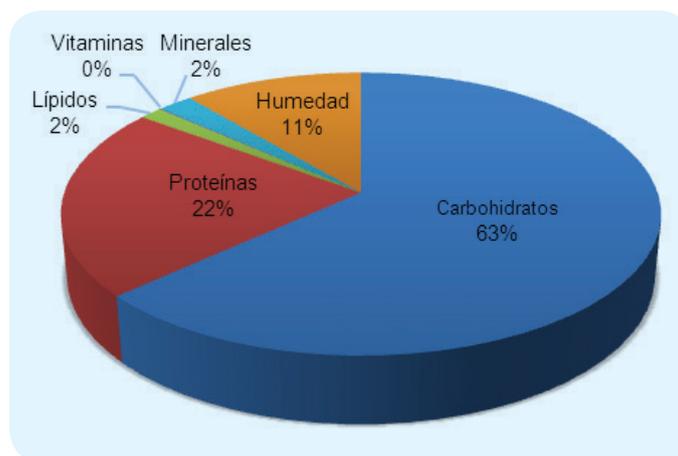


Figura 12. Composición nutrimental del frijol negro. Fuente: USDA (2010c); Ulloa et al. (2011).

Carbohidratos: Del total observado, de 5-15 g corresponden a fibra dietética y alrededor de 2 g corresponden a azúcares fermentables. La fibra dietética en el frijol negro contiene sobre todo celulosa y hemicelulosa, es decir, fibra insoluble, la cual previene la constipación y baja el índice glicémico. En cuanto a los azúcares fermentables (oligosacáridos), conformados principalmente por rafinosa y estaquiosa, han demostrado recientemente que lejos de ser indeseables por los problemas de flatulencia asociados, están relacionados con la prevención de enfermedades, entre ellas el cáncer de colón. Además, el almidón resistente que posee el frijol puede tener el mismo efecto que la fibra soluble (disminución de la síntesis hepática del colesterol).

Lípidos: El frijol negro posee una baja cantidad de lípidos. La porción mayoritaria, corresponde a los ácidos grasos poliinsaturados (omega-3 y omega-6), seguido de los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos monoinsaturados (omega-9). Estos lípidos encontrados en el frijol, relacionan su consumo con la salud a nivel cardiovascular y regulación de procesos inflamatorios, entre otros (Coronado et al., 2006; Winham & Hutchins, 2007). No contiene colesterol, ni ácidos grasos trans.

Vitaminas: Contiene Vitamina K, Niacina, Tiamina, Ácido pantoténico, Colina, Vitamina B-6 y Vitamina E. La niacina es de gran importancia en la dieta debido a la influencia que tiene su consumo en la prevención de pelagra.

Minerales: En orden descendiente contiene Potasio, Fósforo, Magnesio, Calcio, Hierro, Sodio, Zinc, Selenio, Manganeso y Cobre. El contenido de hierro es especialmente importante debido a su influencia en la prevención de anemia

Proteínas: Las proteínas presentes en el frijol común (*Phaseolus vulgaris*), se encuentran en una proporción del 17 al 25 %. Están guiadas por la presencia de globulinas, las cuales representan entre el 50 y 75 % del total de las proteínas (Muller & Gottschalk, 1983). Dentro de estas, las faseolinas y lectinas (fitohemaglutininas) ocupan un lugar primordial (Staswick et al., 1986), siendo las primeras, las mejores proteínas para la nutrición humana por ser las más representativas de la semilla y las más abundantes, ya que conforman el 40 % de la proteína total (Ma & Bliss, 1978; Aswathi, 1993; Sharma, 2006). Además, se ha observado que el consumo de proteína de frijol, además de ser una buena fuente de nitrógeno, está relacionado con una reducción en la síntesis de ácidos grasos por el organismo, lo cual la relaciona

con una menor deposición de grasa (Quiñones, 2010), Sin embargo, la calidad de proteína es un tema de discusión a tomar en cuenta cuando se habla de nutrición.

En general, se ha observado que el consumo de frijol reduce la incidencia de tumores cancerígenos, lo cual se ha confirmado epidemiológicamente en poblaciones donde el consumo de esta leguminosa es predominante, sobre todo en el caso de mujeres (Reynoso et al., 2007; Galván et al., 2007).

2.3.1.4.1. Calidad de proteína

El consumo de proteínas es esencial para el organismo humano debido a que éstas poseen propiedades nutricionales y de ellas se obtienen moléculas nitrogenadas que permiten conservar la estructura y el crecimiento de quien las consume.

Existe la posibilidad de formar un gran número de proteínas a partir de las 20 unidades de aminoácidos. Sin embargo, los ocho denominados esenciales o indispensables, no pueden ser biosintetizados por el organismo por lo que deben ser ingerirlos a través de la dieta (Gálvez et al., 2013).

Las proteínas juegan un papel fundamental, siempre y cuando se consuman en los niveles apropiados y se combinen de manera adecuada con otros elementos de la dieta.

El organismo utiliza los aminoácidos y no las proteínas. Por esta razón, el valor biológico de una proteína (porcentaje utilizado por el organismo), depende de su capacidad para proporcionar los aminoácidos indispensables en la proporción que el cuerpo los necesita. Así, actualmente el reto no es solo la disponibilidad de proteínas, sino su calidad, para lo cual se han desarrollado diversos métodos de evaluación.

Teóricamente, una buena manera de evaluar la calidad de una proteína es analizar químicamente su contenido de aminoácidos (perfil de aminoácidos) y comparar con los requerimientos de los seres humanos. En el año de 1985, la FAO/WHO/UN publicó un patrón basado en el requerimiento de aminoácidos indispensables de poblaciones concretas (Tabla 4).

Tabla 4 Patrón general de referencia de aminoácidos indispensables para niños y adultos

Requerimientos de aminoácidos (mg _{aa} / g _{proteína})			
Aminoácido	Niños preescolares (2-5 años)	Niños escolares (2-5 años)	Adultos
Histidina (His)	19	19	16
Isoleucina (Ile)	28	28	13
Leucina (Leu)	66	44	19
Lisina (Lys)	58	44	16
Metionina y cistina (Met, Cys)	25	22	17
Fenilalanina y tirosina (Phe, Tyr)	63	22	19
Treonina (Thr)	34	28	9
Triptófano (Try)	11	9	5
Valina (Val)	35	25	13

Fuente: FAO/WHO/UN (1985).

Al considerar los requerimientos correspondientes a niños y adultos, se vio la necesidad de utilizar un factor conocido como Calificación Química (CQ), mediante el cual se calcula el cociente del contenido de cada aminoácido indispensable de la proteína de prueba, entre el requerimiento del mismo aminoácido en el patrón para poblaciones concretas (en porcentaje) y aquel que presente el menor cociente se conoce como aminoácido limitante y es el que determina el valor de la CQ. Así, la Calificación Química o Score Químico es un indicador primario de la calidad de la proteína, siendo mejor cuando su valor es cercano o igual a 100. En este sentido, la Tabla 5 muestra la comparación entre la Calificación Química de diversas proteínas. No obstante, la disponibilidad de los aminoácidos depende de la digestibilidad de cada proteína, por lo que el Comité de Proteínas Vegetales del Codex Alimentarius como parte de la FAO/WHO, coincidió en reconocer la viabilidad de una corrección a la CQ, multiplicando dicho valor por el de la digestibilidad verdadera de la proteína analizada, parámetro que se conoce como PDCAAS (Protein Digestibility Corrected

Amino Acid Score). El PDCAAS mostrado en la Tabla 5 también muestra una comparación con diversas fuentes de proteína.

	Calificación química (%) ^{1,2}	Digestibilidad ^{3,4}	PDCAAS
Frijol	50	75	38
Soya	100	95	95
Caseína	100	95	95
Huevo	100	98	98
Maíz	43	85	37
Maíz + frijol	88	87	77

Fuente: (1) FAO/WHO/UNU, 1985; (2) Gálvez, 2011; (3) Damodaran, 2008; (4) Navarrete & Bressani, 1981.

Nota: el PDCAAS se calculó multiplicando la CQ por la digestibilidad.

Lo anterior denota que si una proteína es ingerida tal y como es, su valor biológico dependerá del aminoácido restrictivo, es decir, del aminoácido limitante. Sin embargo la calidad nutricional de una proteína deficiente en un aminoácido esencial puede ser mejorada mediante complementariedad de aminoácidos (ver sección 2.3), como ocurre al juntar el maíz y frijol.

Por otro lado, además de una buena calidad de proteína, también es necesario que ésta se consuma en la cantidad adecuada. De esta forma, las necesidades de proteínas, definidas por el Comité de Expertos FAO/WHO/UN (1985) como la *dosis más baja de proteínas ingeridas en la dieta que compensan las pérdidas orgánicas de nitrógeno en personas cuyo mantenimiento de balance energía es moderado*; deben basarse también en recomendaciones, denominadas dosis inocua de ingestión de proteínas. Estas recomendaciones se fundamentan en estudios de balance de nitrógeno realizados con dietas que contienen proteínas de alta calidad biológica (por ejemplo, la proteína láctea caseína) cuya proporción estimada utilizable es del 100 % y cuya digestibilidad también es del 100 %. De esta forma, las necesidades de proteínas dadas en gramos de proteína ingerida por kg de peso corporal por día

(g/kg/día), varían según la edad, el sexo y la actividad física de las personas siendo para niños y niñas de 10-11 años con actividad física moderada de 1.00 y 0.99 g/kg/día, respectivamente y cuyo valor disminuye conforme incrementa la edad hasta llegar a un mínimo de 0.75 g/kg/día para adultos a partir de 18 años sin importar el sexo. Una cantidad mayor de proteína ingerida puede ser negativa porque su degradación provoca una carga excesiva de Nitrógeno al organismo (NRC, 1989).

2.3.1.5. Factores tóxicos y antinutricionales en leguminosas: el caso del frijol

A los alimentos tradicionales o convencionales, se les ha conferido la característica de seguros o relativamente inocuos, pero en realidad son químicamente complejos. En el caso de las leguminosas, estas contienen una amplia variedad de compuestos tóxicos, los cuales constituyen uno de los principales factores que limitan su uso en la alimentación y pueden ser consideradas como plantas de cierto riesgo cuando se consumen sin haber sido sometidas a procesos de cocción para eliminar estos factores (tóxicos o antinutricionales) que impiden la digestión eficiente de las proteínas, reduciendo su biodisponibilidad y afectando su valor nutricional (Valle, 2013; Damodaran, 2008, Damodaran, 1994). Entre los principales tóxicos asociados a las leguminosas se encuentran los glucósidos cianogénicos, promotores de flatulencia, inhibidores de proteasas, fitohemaglutininas y saponinas (Valle, 2013; Cabrera, 2011; Flores, 2010; Lajolo & Genovese, 2002; Stanislaus et al., 1981). Estos tóxicos tienen un papel importante en el metabolismo secundario, como mecanismos de defensa frente al ataque de otros organismos y como compuestos de reserva para biosíntesis de sustancias necesarias para la germinación y crecimiento de la planta. Además, se ha observado que estos compuestos no aparecen por igual en todas las leguminosas y sus efectos fisiológicos son diferentes según el organismo de prueba (Grela et al., 2001; Sangronis & Machado, 2007).

El frijol, como un representante digno de las leguminosas se encuentra afectado por la presencia de factores tóxicos como las hemaglutininas y factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina.

2.3.1.5.1. Hemagglutininas o lectinas en frijol

Las hemagglutininas son un grupo variado de proteínas o glicoproteínas de origen no inmune capaces de reconocer de manera específica carbohidratos de la superficie celular o, en suspensión, son capaces de aglutinar células y precipitar glicoconjugados. Debido a su especificidad hacia determinados eritrocitos, Boyd & Shapleig (1954) las denominaron lectinas (del latín *legere*, elegir) y desde entonces, muchos autores ha usado dicho nombre como sinónimo de este tipo de compuestos. Las lectinas vegetales pueden tener diversas funciones: participan en las interacciones entre las bacterias fijadoras de nitrógeno con la raíz de plantas de leguminosas, poseen actividad mitogénica, pueden tener efectos protectores en contra de la acción patogénica de ciertos microorganismos, entre otros (Hernández et al., 2005; Nowell, 1960).

Como resultado de la aglutinación, el consumo de leguminosas con un mal tratamiento térmico, puede provocar numerosos efectos fisiológicos, entre ellos, la afectación de vellosidades intestinales lo cual provoca edema e interfiere con la absorción de nutrimentos (Lajolo & Genovese, 2002). En cortos experimentos, se ha comprobado que las lectinas de frijol impiden el crecimiento de ratas, inducen el crecimiento del intestino delgado y estimulan la hipertrofia del páncreas, y además, en altas concentraciones inducen la disminución de músculo esquelético (Bardocz et al., 1996) por lo que es importante contar con un buen tratamiento térmico que permita reducir al máximo la presencia de estos compuestos.

2.3.1.5.2. Inhibidores de tripsina en frijol

Los inhibidores de proteasas son proteínas que tienen la capacidad de inhibir la actividad proteolítica de enzimas digestivas como las serin-proteasas (tripsina y quimiotripsina) mediante la formación de complejos muy estables, lo cual impide su actividad catalítica. Su función es intervenir en el proceso de autorregulación proteolítica antes y durante la germinación de la semilla, inhibiendo proteínas endógenas además de inhibir los sistemas enzimáticos de sus depredadores: microorganismos o insectos (Valle, 2013).

En las leguminosas como el frijol, es posible encontrar dos familias principales de inhibidores de proteasas: inhibidor de Kunitz e inhibidor de Bowman-Birk, denominados de esta forma tras los aislamientos realizados por Kunitz (1974) y Bowman, respectivamente. Al nombramiento de este último, se le añadió el apellido Birk (1968), debido a que este último realizó el aislamiento. Ambas proteínas tienen la particularidad de ser solubles en agua y constituyen del 0.2-2 % del total de la proteína soluble de las leguminosas. Un inhibidor tipo Kunitz inactiva una molécula de tripsina, en tanto que un inhibidor Bowman-Birk inhibe simultáneamente y de forma independiente, dos enzimas pudiendo ser tripsina/tripsina o tripsina/quimiotripsina (Savage et al., 2003; Sathe, 2002).

Los inhibidores de proteasas más estudiados son los que actúan sobre la tripsina, debido a que es una enzima digestiva de gran importancia en la digestión de monogástricos como el ser humano. Estas proteínas han sido aisladas de diferentes plantas o animales y entre las fuentes más importantes se encuentran la soya, el frijol y el ovomucoide de huevos de aves (Valle, 2013).

La importancia de estudiar estos compuestos radica en que se ha comprobado que el consumo de inhibidores de tripsina provoca efectos nocivos en animales de experimentación mediante la formación de complejos inactivos, lo que provoca la reducción en la cantidad de estas enzimas digestivas, dificultándose así la proteólisis y absorción de la proteína adquirida con la dieta, por lo que es considerado un factor antinutricional. Además, se ha observado que su consumo provoca una hipertrofia/hiperplasia en el páncreas debido principalmente a que tanto los inhibidores como los complejos formados, se unen a la mucosa duodenal y estimulan la liberación de colecistoquinina, incrementando así la secreción de enzimas pancreáticas (tripsina y quimiotripsina) y provocando que los aminoácidos azufrados que se encontraban sintetizando proteínas del tejido corporal, se desvíen hacia la síntesis de estas enzimas (Liener, 1989) mediante un mecanismo que aún no se ha dilucidado por completo. Sin embargo, los inhibidores de tripsina pudieran tener también un efecto positivo en la dieta debido a que se ha observado que los inhibidores del tipo Bowman-Birk, pueden intervenir en la prevención y tratamiento de diferentes tipos de cáncer, entre ellos el de colón, mama y próstata (Troll et al., 1987; Kennedy, 1998; Clemente et al., 2004).

2.3.1.6. Antocianinas en el frijol

Los alimentos también contienen de manera natural, compuestos bioactivos cuyo consumo puede afectar al organismo humano de forma positiva.

En el caso del frijol, se ha reportado la presencia de compuestos bioactivos como ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas, siendo estas últimas las que diferencian a variedades de frijol de testa negra de otras variedades y las que sufren una mayor pérdida por el procesamiento térmico al que son sometidos los frijoles previo a su consumo (Salinas et al., 2005; Baojun et al., 2009; Onyilagha & Islam, 2009).

Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano (Harborne, 1989). Las antocianinas pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos, particularmente de los flavonoides, que se caracterizan por su solubilidad en agua y por sus colores brillantes (Salinas et al., 2005; Mazza, 1995). Su función principal es atraer seres vivos para propósitos de polinización en flores y dispersión en semillas. Son pigmentos responsables de los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de muchos alimentos de origen vegetal y su color depende de su naturaleza y concentración. Existen factores adicionales que afectan su color: pH, temperatura, oxígeno, luz, metales y el efecto de copigmentación, determinado por la interacción entre sustancias orgánicas (aminoácidos, por ejemplo) y las antocianinas (Gross, 1987; Mazza, 1995).

Las antocianinas son las formas catiónicas del flavilio. Su estructura corresponde a heterociclos formados por la combinación de una aglicona (molécula de antocianidina) y un azúcar a través de un enlace β -glucosídico (Gross, 1987). Se conocen más de 600 antocianinas, sin embargo, solo seis son de interés en los alimentos: pelargonidina, cianidiana, delphinina, peonidina, petunidina y malvinidina (Aguilera et al., 2011).

Se puede decir que las antocianinas actúan como indicadores ácido-base puesto que el color resultante está en función de la estructura que se encuentre en mayor proporción a determinados pH. Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido y debido a una deficiencia en el núcleo flavilio, adquieren una estructura de oxonio estable de catión flavilio colorido

(rojo); a medida que incrementa el pH (pH 4.5) se promueve la desprotonación del catión flavilio (ataque nucleofílico) por parte del agua, produciéndose así la pseudobase carbinol de la que enseguida se forma la chalcona, (con forma incoloras y ligeramente amarilla, respectivamente). Asimismo, a pH 7 o superiores y debido a la desprotonación continuada, predominan las formas quinoidales con coloración azul (Gross, 1987; Montilla et al., 2008; Figura 13).

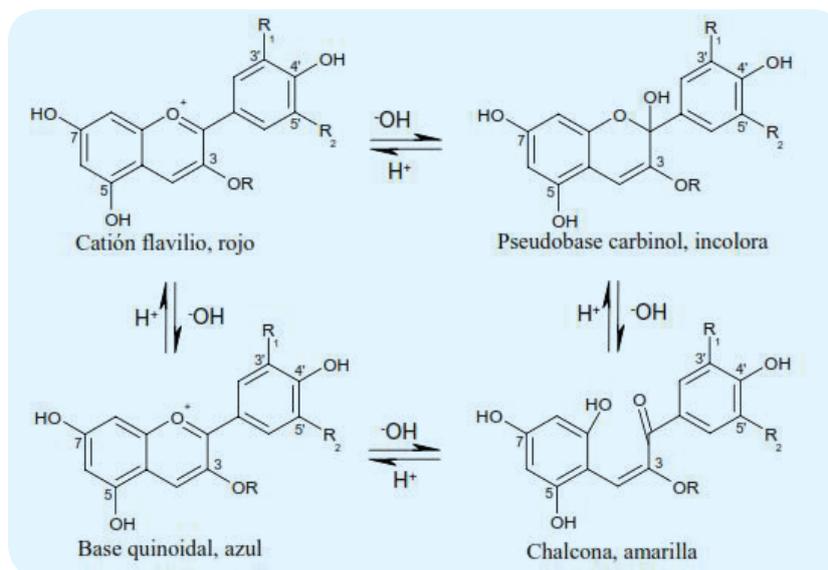


Figura 13. Estructura de las antocianinas en función del pH. Fuente: Montilla et al. (2008).

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Garzón, 2008; Motohashi & Sakagami, 2008). Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Wang & Jiao, 2000). Lo anterior provoca que se ejerzan efectos terapéuticos, que incluyen la reducción de enfermedades coronarias, y que posean efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo (Garzón, 2008; Prior & Wu, 2006, Wang & Stoner, 2008).

En el caso del grano de frijol negro, se han encontrado cantidades significativas de antocianinas que, sin embargo, varían de acuerdo con las condiciones de cultivo, la localidad de la siembra y por supuesto, la variedad de frijol. Estos compuestos, se localizan mayoritariamente en la testa, en el hipocótilo y en el cotiledón, y se ha observado que aunque sufren el efecto de la temperatura durante la cocción del frijol, aun preservan actividad antioxidante residual (Salinas et al., 2005).

Por ello, la presencia de antocianinas, pudiera hacer del frijol negro, además de una fuente importante de proteína, un ingrediente potencial para el suministro de colorantes y antioxidantes, en el desarrollo de nuevos productos alimenticios, sobre todo de los denominados alimentos funcionales o nutraceuticos.

2.4. DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS: ALIMENTOS TRADICIONALES COMO ELEMENTOS PARA REDUCIR LA MALA NUTRICIÓN

La educación en nutrición debe darse en términos de información accesible en escuela, casa, trabajo y en general, en nuestro ambiente. Además, debe complementarse con la disponibilidad de alimentos sanos, sobre todo en lugares con alta concentración de personas. Éste, es un paso fundamental en el que, evidentemente, es necesaria la participación de la sociedad a través de una campaña de sensibilización que posibilite el cambio en los hábitos alimentarios. En este contexto, la tecnología alimentaria juega un papel muy importante para el desarrollo de nuevos productos enfocados en el mantenimiento de la salud y en las tendencias del mercado regidas por la disponibilidad, innovación y difusión. De acuerdo a lo anterior, la explotación en el uso de ingredientes tradicionales mexicanos, podría beneficiar su inserción dirigida a los actuales hábitos de consumo y donde diferentes nichos de mercado puedan ser partícipes.

Además, es necesario tomar en cuenta la importancia de la Seguridad Alimentaria y Nutricional, la cual es un derecho individual, familiar y comunitario, que se logra cuando todas las personas, en todo momento, tienen acceso físico y económico a alimentos nutritivos, seguros y en cantidades suficientes para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias, que además, les permita llevar una vida sana y activa (FAO, 2010).

No obstante, la mala distribución de los recursos, la complejidad en la cadena de suministro (incluyendo el aumento en el precio de los combustibles), la economía actual, y el desperdicio de alimentos, son algunos de los factores que inciden en el desabasto inadecuado y la elevada percepción de inseguridad alimentaria por parte de la población mexicana, siendo del 67 % en el estrato urbano y 80.8 % en el estrato rural (Gutiérrez et al., 2012). Sin embargo, de acuerdo con cifras de la FAO (2009),

el suministro alimentario mexicano, ha sido mayor a las necesidades nacionales, al promediar las 3146 kcal/día/cápita entre el año 2000 y 2009, muy por encima de los requisitos promedio de 2000 kcal kcal/día/cápita (las necesidades calóricas son únicas y dependen de la edad, sexo y actividad física de cada individuo; FAO/WHO/UN, 1985).

Así, las leguminosas de grano, que siempre han contado con un lugar privilegiado en la agricultura y la alimentación podrían y deben regresar para aminorar los impactos negativos descritos a lo largo de este trabajo. En este sentido, el frijol puede ser una excelente opción para el desarrollo de nuevos productos que permitan la inserción de elementos tradicionales acoplados al mercado actual que demanda salud, sabor y rapidez de consumo en un solo producto (45 % de los consumidores de frijol industrializado eligen la presentación por el tiempo de preparación del producto); por lo que uno de los retos a explorar podría ser la producción y evaluación de aislados proteínicos obtenidos a partir de esta leguminosa.

2.4.1. Aislados proteínicos vegetales

Aislar es un verbo definido por la Real Academia Española (RAE) como la acción de separar un elemento o un cuerpo de una combinación o del medio en que se halla, generalmente para identificarlo o analizarlo. Así, un aislado proteínico se puede definir como el producto de la separación de proteínas del medio donde se hallan y la connotación vegetal o animal, dependerá de la fuente de la que se parte.

Los aislados proteínicos son productos importantes en la industria alimentaria que por lo general se obtienen a partir de tratamientos alcalinos (proteínas vegetales) o acidificación (proteínas animales) para posteriormente someterlas a operaciones como precipitación isoelectrica y evaporación. Actualmente no existen normas ni en México ni a nivel Internacional que mencionen explícitamente a qué se le puede llamar aislado, a excepción de la Norma CODEX STAN 175-1989, la cual se centra exclusivamente en la soya. Sin embargo, lo que sí existe es una norma sobre Productos Proteínicos Vegetales (PPV) en la que se describe a éstos como productos alimenticios obtenidos de materias vegetales mediante la reducción o eliminación de algunos de los principales constituyentes no proteínicos (agua, aceite, almidón, otros carbohidratos), de manera que se obtiene un contenido en proteína (N x 6.25)

del 40 % o más (CODEX STAN 174-1989). Por lo anterior, no existe una delimitación para llamar aislado o concentrado a un determinado producto proteínico distinto al de la soya, sin embargo, existe la delimitación de lo que es un PPV y en este sentido, la presente Tesis usará el término aislado indistintamente.

Los aislados o concentrados proteínicos son usados en la industria alimentaria para optimizar el valor nutrimental y mejorar las propiedades físicas de alimentos y normalmente son agregados después de la modificación de alimentos tradicionales como carne y productos de cereal, así como también en la producción de nuevas fuentes de alimentos como sustitutos de carne, pollo y leche (Belitz, 2005).

Sin embargo, la producción de aislados conlleva cambios estructurales observados no solo por su aspecto físico, sino por las diferencias en las propiedades funcionales, dado que las proteínas pueden estar más desplegadas, lo que facilita su buena funcionalidad en interfaces. No obstante, un aislado proteínico puede perder aminoácidos indispensables, por lo que no siempre se pueden utilizar como ingredientes en grandes cantidades (como fuente de proteínas). La mayoría de las veces se utilizan como aditivos porque son sus propiedades funcionales las más atractivas, y no las nutricias (Gálvez et al., 2013).

La industria alimentaria permanentemente busca proteínas alternativas y competitivas, y en este sentido, las proteínas de origen vegetal han cobrado importancia debido a que al igual que las proteínas animales, poseen características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. La soya (*Glycine max*), es considerada una buena fuente de proteína y líder del mercado de este tipo de ingredientes y aditivos alimentarios a pesar de tener un impacto negativo debido a su alergenicidad (Curciarello, 2010; Herman et al., 2003). No obstante, también existen aislados comerciales a partir de chícharo (*Pisum sativum*) y algunos experimentales a partir de ajonjolí (*Sesamum indicum*; López et al., 2003), entre otros. El frijol pudiera entrar en este mercado. Sin embargo, se sabe que se consume frijol no solo por su calidad nutrimental, sino por sus atributos sensoriales, por lo que el conocimiento de ambos y su difusión debe ser primordial para entender los efectos benéficos más allá de su consumo gastronómico (Rodríguez-Licea et al., 2010).

2.4.2. Propiedades funcionales

La funcionalidad de los ingredientes alimenticios se define como cualquier propiedad, nutricional o no, que determina su utilidad en los alimentos, incidiendo de manera especial en las características sensoriales, comportamiento físico y calidad de tales sistemas (Cheftel et al., 1989). Este comportamiento depende de las propiedades físicas y químicas que se afectan durante el procesamiento, almacenamiento, preparación y consumo del alimento.

Entre las propiedades funcionales más investigadas y por tanto valoradas de ingredientes y aditivos alimentarios, se encuentran: solubilidad, humectabilidad, absorción de agua y aceite, actividad emulsificante y capacidad espumante (Damodaran, 2008).

Las propiedades funcionales permiten el uso dirigido de las proteínas como ingredientes en alimentos como se observa en la Tabla 6.

Función	Propiedad Física/Química	Alimento	Tipo de proteína
Solubilidad	Hidrofilicidad, carga neta	Bebidas	Proteínas del suero; proteínas aisladas de ajonjolí
Viscosidad	Hidrofilicidad, hidrodinámica del tamaño y forma	Sopas, salsas postres y aderezos	Gelatina; Soya
Absorción de agua	Hidrofilicidad	Salchichas, pasteles y panes	Proteínas musculares o de huevo
Gelación	Atrapamiento de agua, formación de redes	Cárnicos, geles, pasteles, panadería, quesos	Proteínas musculares, de huevo o lácteas
Adhesión-cohesión	Hidrofobicidad, interacciones iónicas y puentes de hidrógeno	Cárnicos, salchichas, pastas, panificación	Proteínas musculares, de huevo o lácteas (suero)
Elasticidad	Interacciones hidrofóbicas	Panadería y cárnicos	Proteínas musculares, gluten o proteínas de cereales
Emulsificación y espumado	Hidrofobicidad, hidrofilicidad, flexibilidad y rigidez, tamaño, estructura. Adsorción interfacial y formación de películas	Mayonesas, aderezos Merengues, helados y productos batidos	Proteínas musculares, de huevo, lácteas o de soya. Aislados proteínicos de soya y ajonjolí.
Capacidad de ligar grasa y sabores	Interacciones hidrofóbicas, atrapamiento	Productos de panadería bajos en grasa, donas	Proteínas lácteas, de huevo, gluten o proteínas de cereales

Fuente: Kinsella et al. (1985).

Existen diversos métodos de clasificación de propiedades funcionales. Sin embargo, Cheftel et al. (1989) consideran su agrupación en: Propiedades de hidratación, Propiedades interfaciales de las proteínas y Propiedades de unión de sabores.

2.4.2.1. Propiedades de hidratación (interacción proteína-agua)

El agua es un componente esencial de los alimentos y modifica las propiedades fisicoquímicas de las proteínas. Factores como pH, tipo de sales, conformación de la proteína y temperatura, influyen sobre la capacidad de las proteínas para ligar agua y presentan menor capacidad de hidratación en su punto isoeléctrico, en el que predominan las interacciones proteína-proteína. En una baja concentración de sales, se incrementa la capacidad para ligar agua y a altas concentraciones, gran parte del agua existente se liga a los iones de la sal y se deshidratan las proteínas. En cuanto a la temperatura, a medida que incrementa, disminuyen los hidrógenos unidos y la hidratación de los grupos iónicos por lo que una proteína desnaturalizada suele unir un 10 % más de agua que su equivalente en su estado nativo. La solubilidad es la principal propiedad funcional en este grupo, aunque otras propiedades también dependen de las interacciones proteína-agua (Gálvez et al., 2013; Khalid et al., 2002).

2.4.2.1.1. Solubilidad

Las propiedades funcionales de las proteínas, a menudo se ven afectadas por la solubilidad de la proteína, especialmente en el caso del hinchamiento, espumado, emulsificación y gelificación (Hettiarachchy & Ziegler, 1994).

La solubilidad de proteínas es considerada como la cantidad de proteína en una muestra que se disuelve en una solución. Ésta, es la primera propiedad funcional que usualmente se determina durante el desarrollo y análisis de nuevos ingredientes proteínicos, por lo que conocer su valor puede dar información útil en su potencial de utilización (Kinsella, 1976). Las proteínas altamente solubles poseen buena dispersabilidad de sus moléculas o partículas, y promueven la formación de sistemas con dispersiones coloidales.

Las cuatro categorías en que se clasifican las proteínas, de acuerdo con sus características de solubilidad se muestran en la Tabla 7.

Categoría	Descripción	Ejemplos
Albúminas	Se solubilizan en agua a pH 6.6	Ovoalbúmina, albúmina sérica
Globulinas	Son solubles en soluciones salinas diluidas a pH 7.0	Faseolina, b-lactoglobulina
Glutelinas	Son solubles en soluciones ácidas y alcalinas	Glutelinas de trigo
Prolaminas	Son solubles en etanol al 70 %	Gluten de maíz, Gliadinas de trigo

La solubilidad de las proteínas está íntimamente ligada con su estado estructural, por lo que esta propiedad se puede utilizar como un indicador del grado de desnaturalización durante los procesos de extracción, aislamiento y purificación de las mismas.

2.4.2.1.2. Humectabilidad

La humectabilidad se entiende como la capacidad de una proteína en polvo para hidratarse rápidamente y producir una dispersión fina y uniforme. Esta propiedad resulta relevante en la elaboración de alimentos como bebidas y pastas, ya que éstas son producidas al mezclar ingredientes en polvo con agua.

La evaluación de esta propiedad consiste en la observación del comportamiento de una muestra al momento en que ésta interacciona con el agua, así como del estado del sistema después de permanecer 30 minutos en reposo y lo que ocurre al ser sometido a una agitación. Los parámetros sugeridos por Balmaceda et al. (1984) para evaluar la humectabilidad de muestras de fuentes proteínicas se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8 Parámetros para la evaluación de la Humectabilidad de fuentes proteínicas

	Comportamiento al entrar en contacto con el agua	Estado del sistema tras 30 min de reposo y después de agitar
Excelente	Se humedece inmediatamente	Se encuentra totalmente dispersa
Buena	Se humedece ligeramente	Una parte está dispersa y otra ha sedimentado, pero se dispersa al ser agitada
Escasa	Se humedece poco y tiende a formar grumos manteniéndose en la superficie	Sigue en la superficie pero un poco se ha dispersado, al agitar se dispersa la mayor parte pero al suspender la agitación aún quedan algunos grumos
Mala	Difícilmente se humedece y forma grumos	La dispersión es casi imperceptible y los grumos permanecen en la superficie, la agitación no los dispersa y al suspenderla vuelven a flotar.

2.4.2.2. Propiedades interfaciales de las proteínas

Las proteínas presentan en su superficie activa tres atributos deseables: la capacidad para adsorberse rápidamente en una interfase, para desplegarse rápidamente y reorientarse, y para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas, incluso en la interfase. Un ejemplo es la formación de espuma y emulsión estables durante el batido, o la homogeneización debida a la adsorción espontánea y rápida de las proteínas a la nueva interfase, lo que depende principalmente del patrón de distribución de las zonas hidrofóbicas e hidrofílicas en la superficie.

2.4.2.2.1. Propiedades de emulsificación

El objetivo del trabajo en emulsiones realizado para fines aplicativos en investigación y para la industria alimentaria es utilizar los principios y técnicas de la ciencia en emulsiones y así mejorar la calidad y eficiencia en la producción y suministro de alimentos con fases inmiscibles.

Una emulsión consta de dos fases líquidas inmiscibles (usualmente agua y aceite), una de las cuales se localiza dispersa en la otra como pequeñas gotas esféricas. Las emulsiones pueden ser clasificadas convenientemente acorde a la distribución del aceite (fase oleosa) y la distribución de agua (fase acuosa). Así, es posible tener emulsiones de aceite en agua o bien, agua en aceite (O/W y W/O respectivamente y por sus nombres en inglés). Inclusive, es posible preparar emulsiones en las que una de las fases es aire y también emulsiones múltiples de aceite-en-agua-en-aceite (O/W/O) o agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) (Dickinson, 1992; Walstra, 1996). La sustancia que forma las gotas en una emulsión es referida como fase dispersa o interna, mientras que la sustancia líquida circundante es llamada fase continua o externa. La concentración de gotas en una emulsión es usualmente descrita en términos de fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ) y el proceso de conversión de dos líquidos inmiscibles separados en una emulsión o de reducción del tamaño de gota en una emulsión preexistente es conocido como homogeneización.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, sin embargo, es posible formar emulsiones cinéticamente estables (metaestables) por un periodo de tiempo razonable (días, semanas e inclusive años) gracias a la inclusión de sustancias conocidas como emulsificantes, previo a la homogeneización. Los emulsificantes se definen como moléculas tensoactivas que se absorben a la superficie de gotitas recién formadas durante la homogeneización con la subsecuente formación de una membrana protectora (área interfacial) que previene la unificación de las mismas y consecuentemente no permite la separación de las fases. La mayoría de los emulsificantes son moléculas anfifílicas, es decir, presentan regiones polares y no polares, por lo que difieren significativamente en las propiedades de superficie que presentan cada una, lo que trae en consecuencia, la inexistencia de una relación confiable entre la solubilidad y las propiedades emulsificantes de una proteína (Damodaran, 2008).

Las propiedades emulsificantes de las proteínas se pueden evaluar por diversos métodos, entre ellos la actividad emulsificante y la estabilidad de emulsión.

Índice de actividad emulsificante (IAE). Las propiedades físicas y sensoriales de una emulsión estabilizada con proteínas dependen del tamaño de las gotas formadas y el total del área interfacial formada. El IAE es una medida indirecta del tamaño de gota obtenido en la emulsión y se define como la máxima área interfacial que puede

formar una determinada cantidad de proteína en una emulsión. Se calcula en m^2 y normalmente se expresa por gramo de proteína. Se considera así, que a mayor IAE, el área interfacial formada por un gramo de proteína será mayor y por lo tanto, la proteína tendrá mayor capacidad para formar y estabilizar las moléculas de agua y lípidos del alimento que los contenga. En general, se representa la estabilidad por el tiempo de conservación sin ruptura de una emulsión en condiciones normales de almacenaje; aunque también hay pruebas aceleradas de estabilidad; una de ellas es el aumento del efecto gravitacional sobre el sistema, es decir, mediante centrifugación, para posteriormente determinar la velocidad de separación de las dos fases.

Estabilidad de emulsión. Para estabilizar una emulsión, los dominios hidrofóbicos de la proteína deben orientarse hacia la fase oleosa. Las emulsiones estabilizadas por proteínas a menudo son estables por días y no se observa separación de alguna fase incluso si se encuentran almacenadas en condiciones ambientales. Se pueden realizar pruebas aceleradas de estabilidad de emulsión mediante el uso de fuerza centrífuga o altas temperaturas, aunque es usual que se realice a temperatura ambiente y condiciones normales de almacenamiento. La estabilidad se expresa como la disminución del área interfacial de la emulsión, o como el porcentaje de crema separada o aceite coalescido (Dagorn-Scaviner et al., 1987).

2.4.2.2.2. Propiedades de espumado

Las propiedades de espumado de las proteínas están relacionadas con su capacidad para formar sistemas estables de dos fases que consisten en celdas de aire separadas por medio de una lámina delgada y continua ya sea en fase líquida o semisólida. La distribución del tamaño de las celdas influye tanto en la apariencia como en la textura de los productos alimenticios. Así, las espumas se pueden definir como productos que constan de una fase continua acuosa y una fase dispersa gaseosa (aire) y entre ellos podemos encontrar a los helados de crema, pasteles o merengues. Diversos factores determinan las propiedades de las espumas como el método de agitación, el equipo empleado, la temperatura, el pH, entre otros.

Las propiedades espumantes se evalúan por diferentes principios. La capacidad espumante de una proteína se refiere a la cantidad de área interfacial que puede

ser creada por la proteína y se puede expresar como sobrerendimiento o poder de espumado. El poder espumante por lo general aumenta con la concentración de proteína hasta un valor máximo y solo se pueden contrastar las propiedades espumantes de diversas proteínas si se comparan concentraciones iguales de proteína. La estabilidad de la espuma, por su parte, se refiere al tiempo necesario para la reducción del volumen de espuma y aunque es empírico, su papel en la evaluación sensorial es importante.

2.4.2.3. Propiedades de unión de sabor

Las proteínas son inodoras, pero pueden unir compuestos de sabor y por ello afectar las propiedades sensoriales de los alimentos. Varias proteínas presentan sabores indeseables, lo que limita su aplicación en alimentos. Por ejemplo, el sabor “afrijolado” se atribuye a la presencia del hexanal y la afinidad de esta unión es tan fuerte que resiste la extracción con solventes (Gálvez et al., 2013). El mecanismo de unión del sabor a las proteínas depende del contenido de humedad de la muestra de proteína, así, las proteínas en polvo se ligan a los sabores mediante interacciones Van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. Por su parte, las grasas o aceites también son responsables en gran medida del sabor de los alimentos, sin embargo, las nuevas tendencias de los alimentos procesados apuntan hacia la producción de alimentos bajos en grasa por lo que existe un interés en la producción de nuevos ingredientes alimentarios con capacidad para absorber aceite en cantidades moderadas pero que pueda ligar otros sabores deseables en los alimentos.

2.4.3. Evaluación de nuevas formulaciones

La evaluación sensorial se refiere a las técnicas usadas para entender cómo los atributos que tienen relación con los sentidos (apariencia, sabor, olor y textura), conducen las preferencias de los consumidores. En ella, podemos basarnos para realizar pruebas sensoriales analíticas (condiciones controladas) o afectivas.

Las pruebas sensoriales afectivas permiten, entre otras cosas, estudiar el mercado potencial de un producto. Estas pruebas evalúan la respuesta personal de los consumidores reales o potenciales de un producto, prototipo de producto

o características específicas del producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro (Anzaldúa-Morales, 1994; Meilgaard et al., 1999). La definición de mercado en marketing, define al conjunto integrado por personas físicas y jurídicas que en un área geográfica determinada consumen o pueden consumir un producto o servicio (AMA, 2007). Son mercados reales los que consumen los productos de los ofertantes, y mercados potenciales los que no consumiéndolos aun, podrían hacerlo en el presente inmediato o en el futuro. La evaluación del mercado permite tener una noción clara del tipo y la cantidad de consumidores que habrán de adquirir el bien o servicio que se piensa vender, dentro de un espacio definido durante un periodo de mediano plazo y a qué precio están dispuestos a obtenerlo. El deseo de una persona para adquirir un producto es lo que se llama aceptación, y no solo depende de la impresión agradable o desagradable que el consumidor reciba al probar un alimento, sino también de aspectos culturales, socioeconómicos y de hábitos, entre otros. Por lo tanto, todas las pruebas de aceptación realizadas a uno o varios productos, deben incluir además de las pruebas de preferencia y/o grado de satisfacción, una sección de preguntas acerca de hábitos actuales de compra, hábitos sobre el consumo de alimentos, intento de compra (si la persona desea o no adquirir el producto) y posible precio que pagaría por el producto, entre otras preguntas.

De esta forma, se pueden tener datos más confiables que pueden ser analizados con más cautela y donde se puedan utilizar filtros con la finalidad de realizar una mejor observación hacia el producto en cuestión y su entorno.

La evaluación sensorial es un tema que no se debe dejar a la ligera, ya que es el primer acercamiento real con clientes potenciales y en los que la primera impresión realmente cuenta.

“Dime qué comes y te diré quién eres”

Jean Anthelme Brillat-Savarin (1755-1826). Jurista francés, autor del primer tratado de gastronomía

3. Antecedentes

Esta Tesis forma parte del proyecto de investigación “Producción y aprovechamiento de un aislado de frijol como alimento funcional con influencia en la expresión génica que afecta lipogénesis”, apoyado por el extinto Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ahora Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación del Distrito Federal) bajo la clave PICS08-33 y dentro del programa Ciudad Sostenible (subprograma “Producción, aprovechamiento y calidad de los alimentos tradicionales”). Fue desarrollado en conjunto con el grupo de investigación de los Doctores Armando Tovar y Nimbe Torres del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) e incluyó las Tesis de Maestría elaboradas por Márquez (2011) y Quiñones (2010), siendo esta última, el estudio inmediato anterior de la presente Tesis.

El estudio general, se originó de la hipótesis generada a partir de la ingesta de proteína proveniente de fuentes animales y vegetales (Figura 14).

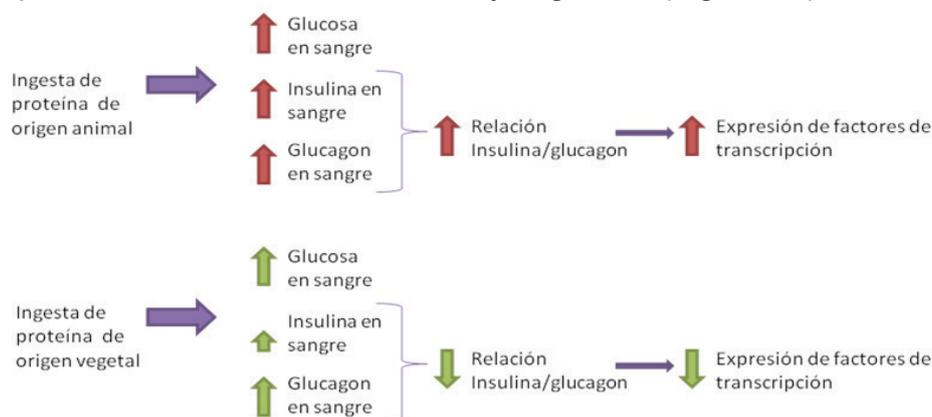


Figura 14. Hipótesis sobre los posibles efectos de ingesta de proteína animal y vegetal.

Fuente: Quiñones (2010).

La hipótesis relaciona la ingesta de proteína de origen animal con un incremento en la relación insulina/glucagón, ligada a su vez, con un aumento en la expresión de factores de transcripción relacionados con la lipogénesis (SREBP-1), es decir, con la síntesis de ácidos grasos en el organismo. De manera contraria, el consumo de proteína vegetal (como la proteína de soya y la de frijol negro), está relacionado con una disminución de SREBP-1, según lo reportado por Tovar & Torres (2010).

Lo anterior da lugar a reconocer que los cambios de alimentación regidos en la ciudad por un aumento en el consumo de carne y reducción de consumo de proteína

vegetal, asociados a otros factores, pudieran ser un detonante en el incremento exponencial de personas con sobrepeso u obesidad en los últimos años.

Los resultados obtenidos del proyecto general y los cuales motivaron la realización de esta Tesis se numeran a continuación:

1. Se diseñó la metodología de aislamiento proteínico de frijol negro para conocer el efecto de esta en animales de experimentación
2. Se comprobó la calidad proteínica del aislado, y se encontró deficiencia únicamente en metionina.
3. Se comprobó que el consumo de frijol (administrado como aislado) en dietas de ratas (al 20 % de proteína) indujo cambios importantes en su metabolismo (Tabla 9). Es decir, el consumo de proteína aislada de frijol:
 - a) Logró un aumento de peso de los animales similar al de la soya, motivo por el que la proteína de frijol puede ser considerada de buena calidad
 - b) Elevó la glucosa tan lentamente como la soya y disminuyó la secreción de insulina aún más que la soya (ambas mejor que caseína), cualidad buscada en la alimentación de pacientes diabéticos
 - c) Mantuvo en niveles normales los valores de colesterol en sangre
 - d) Aumentó la concentración de triglicéridos (aunque manteniéndose en valores normales). Este resultado tendría que verificarse posteriormente debido a que puede ser resultado de que no se forme grasa
 - e) Ayudó a mantener los niveles de homocisteína por debajo de 12 mmol/L, resultado al que puede atribuirse un efecto en la conservación de la salud cardiovascular (Sánchez et al., 2009), el cual es similar a la soya y cuya ventaja no posee la caseína
 - f) Indicó que la relación insulina/glucagon podría indicar una menor lipogénesis (Tovar & Torres, 2010; Ortiz-Huidobro et al., 2012)

- g) Disminuyó el factor de transcripción SREBP-1 de las enzimas lipogénicas (comprobación de inciso f) y,
- h) Generó un efecto hipolipidémico (disminución de la producción de grasa en el organismo), efecto que solo se conocía en la soya y totalmente contrario a lo encontrado para caseína

Tabla 9 Resumen de cambios metabólicos registrados por el efecto del consumo de proteína de frijol en comparación con caseína y soya.

Dieta (Proteína)	Crecimiento	Colesterol	Triglicéridos	Glucosa	Insulina	Glucagon	RIG y SREBP-1
Caseína	↑↑↑	=	=	↑	↑↑	↑	↑↑
Soya	↑↑	=	↓	↑	↑	↓	↑
Frijol	↑↑	=	↑	↑	↑	↑	=

Fuente: Reporte parcial del proyecto PICS08-33. (=) se mantiene en el nivel basal y la ingesta no genera cambios. () Eleva el resultado pero no tanto como en los otros casos. RIG: Relación Insulina-Glucagon. SREBP: Factor de transcripción de enzimas lipogénicas.

En los resultados previos del grupo de trabajo, el efecto de la ingesta de proteína de frijol también se comparó contra la ingesta de gluten de maíz, frijol/gluten de maíz (mezcla) y caseína como proteína patrón. El resultado mostró al aislado de frijol en combinación con la proteína de maíz como la mejor fuente de proteína reguladora de SREBP-1 y por lo tanto de la lipogénesis.

Con base en los resultados anteriores, se decidió proceder a la mejora en el proceso de aislamiento, dadas las malas propiedades funcionales del aislado (derivadas probablemente del tipo de secado empleado) que impedían parcialmente su posible uso en formulaciones de alimentos. Lo anterior con la finalidad de promover la futura aplicación del aislado proteínico de frijol negro en nuevos alimentos como opción para activar una rama más del sistema producto-frijol y trasladar los beneficios señalados anteriormente a productos alimenticios procesados y con mira a comprobar el estudio realizado ahora en humanos.

*“Ninguna ciencia, en cuanto a ciencia,
engaña; el engaño está en quien no sabe”*

Miguel de Cervantes Saavedra (1547-1616) Dramaturgo, poeta y novelista español

4. Justificación

La alimentación se encuentra en primer lugar dentro de las necesidades básicas de cualquier ser vivo. Por esta razón, la investigación en alimentación debe ser primordial para el desarrollo de un país, sobre todo cuando se habla de alimentos que forman parte de la esencia nacional. En México, el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es considerado un alimento emblemático y estratégico debido a su *historia, disponibilidad, accesibilidad y valor nutrimental*. Sin embargo la cocción requerida para su ablandamiento y eliminación de factores antinutricionales, ha complicado su uso cotidiano en la sociedad mexicana de hoy en día y debido a que su consumo es básicamente en forma de grano integral, se han creado limitantes empíricas para su utilización en otro tipo de alimentos.

Actualmente, existen en el mercado diversos productos elaborados con frijol en diferentes empaques y presentaciones. No obstante, todavía existe potencial por explorar en esta leguminosa, cuya denominación como Centro de Origen y Diversificación (Hernández et al., 2013; CONABIO 2013b) y como parte de la Cocina Mexicana reconocida en la Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad (UNESCO, 2010) debemos enaltecer.

Y es que, a lo largo de las últimas tres décadas, se ha observado un cambio importante en el patrón de alimentación de los mexicanos, perceptible en el caso del frijol debido a una disminución en su consumo al pasar de 18 a 10 kg/persona/año (SIAP, 2013; Gaucín, 2012), lo cual aunado al aumento de casos de sobrepeso, obesidad y diabetes en nuestro país (de acuerdo con la ENSANUT 2012, el 71 % de la población adulta cuenta con sobrepeso u obesidad), ha provocado una desestabilización nutrimental que exhorta a tomar medidas para recuperar salud e identidad cultural, sin dejar de lado los beneficios que la tecnología alimentaria puede traer y donde principalmente las poblaciones en situación de riesgo se pueden ver favorecidas con la innovación en el desarrollo de nuevos productos elaborados a partir de una leguminosa milenaria como el frijol. Aunado a lo anterior, las constantes pérdidas de grano de frijol debido a su endurecimiento (semillas de más de dos años de cosechadas) y mal almacenamiento (alta humedad y temperatura); ha puesto en la mira la extracción de los diferentes constituyentes del frijol, mediante el aislamiento de las proteínas como una oportunidad comercial para la industria alimentaria.

Actualmente, no existen en el mercado ingredientes basados en proteína de frijol como sucede con la soya, el chícharo o ajonjolí, los cuales han diversificado su uso en distintas formulaciones de alimentos o suplementos. Así, con los antecedentes del grupo de trabajo en cuanto a la obtención de proteína de frijol aislada con potencial nutracéutico pero hasta ese momento con propiedades funcionales desfavorables, se propone explorar y mejorar el proceso piloto de aislamiento con la finalidad de generar un ingrediente novedoso, con buenas propiedades funcionales y nutrimentales, factible de obtener en cantidades suficientes y fácil de formular en alimentos comerciales. La herencia milenaria sustentable (pero vulnerable) de su producción y consumo, se encuentra en la dieta tradicional mexicana, por lo que en esta tesis se propone revalorar su papel como fuente de proteína vegetal sostenible y sin los problemas ecológicos y de salud asociados al consumo de proteína animal.

5. *Hipótesis*

La mejora en el proceso de obtención de un aislado proteínico de frijol negro, beneficiará sus propiedades funcionales, lo cual permitirá su buen uso como un ingrediente funcional en la formulación de alimentos.

6. Objetivos generales

Obtener un aislado de proteínas de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) con buenas propiedades funcionales, además de caracterizarlo fisicoquímica y nutrimentalmente, de manera que se evidencie su potencial como ingrediente para el desarrollo de productos alimenticios portadores de bienestar y destinados al consumo humano.

6.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Mejorar el proceso de aislamiento de proteínas frijol negro y evaluar el producto obtenido (aislado) en términos de calidad microbiológica, composición fisicoquímica, valoración bioquímica y evaluación funcional.
- Aplicar el aislado en formulaciones de alimentos, conforme a las propiedades funcionales y nutricias resultantes, bajo la premisa de obtener en todo momento la mejor calidad proteínica posible, de acuerdo con los requerimientos indicados por la FAO/WHO/UN (1985).
- Revalorar el papel del frijol como fuente de proteína vegetal de buena calidad nutricia.

*“Cualquier plato puede describirse a través
de una fórmula”*

Hervé This (1955-) Físicoquímico francés, pionero en gastronomía molecular

7. Metodología

7.1. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

La estrategia experimental de la presente tesis se dividió en cinco etapas regidas a partir de la obtención del aislado de proteínas de frijol negro. Dichas etapas incluyen las evaluaciones: microbiológica, fisicoquímica, bioquímica, funcional y la propuesta aplicativa, subdivididas a su vez en diversos experimentos dedicados a cumplir los objetivos tal como se muestra en la Figura 15.

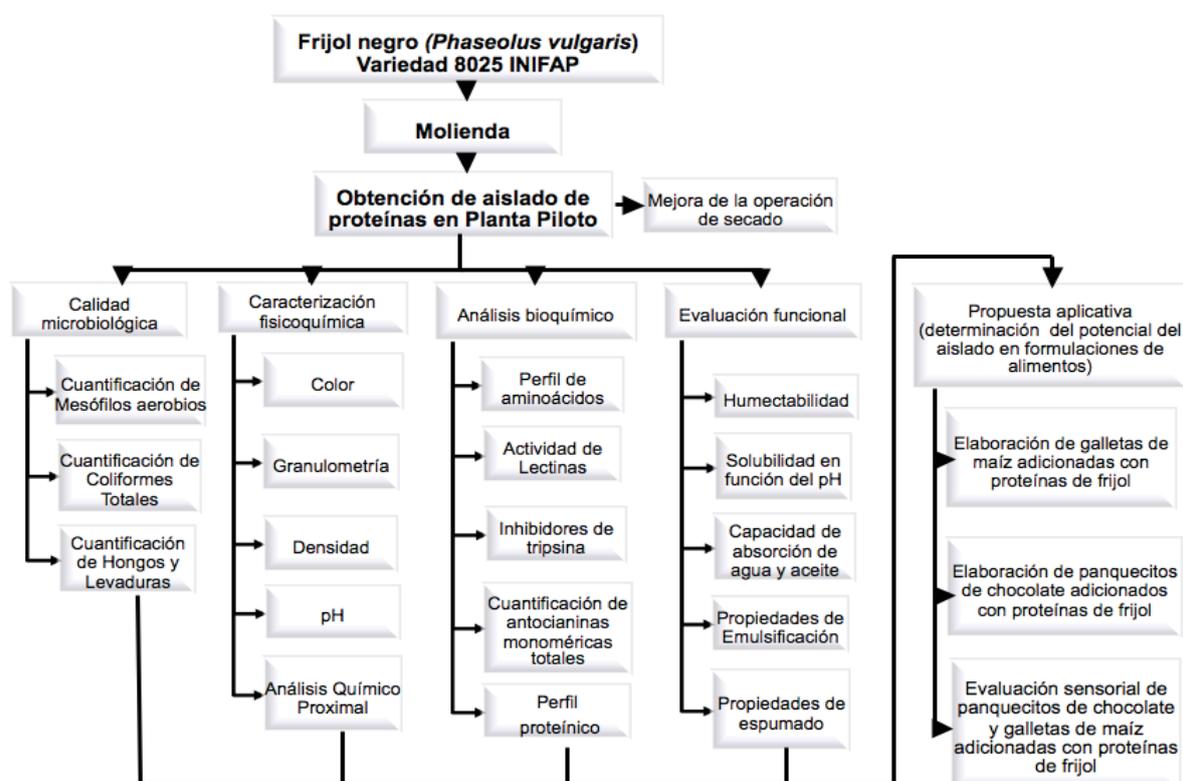


Figura 15. Estrategia experimental desarrollada para efectuar la caracterización fisicoquímica, nutricia y funcional del aislado de proteínas de frijol negro

7.2. MATERIALES Y MÉTODOS

7.2.1. Materia Prima

El frijol utilizado para la obtención del aislado de proteínas fue el Frijol Negro variedad INIFAP 8025, de la clase comercial tipo Jamapa (Figura 16). Esta semilla, obtenida mediante compra directa al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Celaya, Guanajuato, permitió contar con materia prima de una sola línea agrícola con la finalidad de obtener reproducibilidad en su procesamiento y análisis.

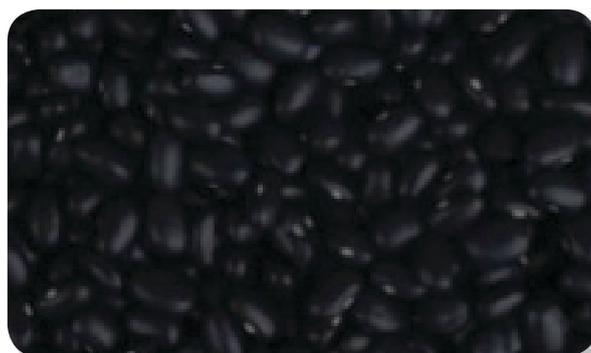


Figura 16. Frijol Negro Variedad INIFAP-8025.

7.2.2. Obtención de un aislado de proteínas de frijol negro

7.2.2.1. Pre-tratamiento

Previo al proceso del aislamiento, los granos enteros de frijol se sometieron a limpieza en seco y molienda. La limpieza del frijol fue efectuada mediante la transferencia de los granos en un tubo conectado a una corriente de aire generada por una aspiradora Rainbow® de 1.5hp en la modalidad de expulsión de aire, de manera que al final se lograran obtener por densidad los granos de frijol limpios de polvo, piedras, ramas y hojas propias de la planta. Posteriormente, el frijol limpio fue sometido a una molienda doble en un molino de cuchillas (Fitz Patrick Company®) ubicado en el establecimiento con razón social “Molino El Faro” Col. Tacuba, Deleg. Miguel Hidalgo, México, Distrito Federal.

7.2.2.2. Proceso original y modificaciones generales

El proceso de obtención del aislado de proteínas de frijol negro en Planta Piloto (Instituto de Biotecnología, UNAM), fue establecido por Quiñones (2010), (Figura 17). Dicho proceso permitió la obtención del aislado que, sin embargo, mostró un tiempo excesivo en el secado en charolas, lo cual se tradujo en la obtención de un producto con apariencia cristalizada, gran dureza y dificultad para moler (granulometría heterogénea). Todo esto se reflejó en propiedades funcionales pobres: baja solubilidad en agua y nulas capacidades emulsificantes y de espumado; características que no resultaron satisfactorias para los objetivos de la presente tesis. Básicamente, el proceso de aislamiento proteínico de frijol negro, consiste en la extracción por solubilidad diferencial de las fracciones proteínicas en la semilla (globulinas, glutelinas y albúminas) con posterior precipitación isoeléctrica, recuperación de proteína, tratamiento térmico (para la eliminación de factores tóxicos y antinutricionales) y finalmente secado.

La principal modificación realizada en el proceso fue el cambio en la operación de secado. Sin embargo, debido a la susceptibilidad de patentar el proceso, esta Tesis omite por seguridad, todas las mejoras realizadas en torno a la obtención del aislado proteínico de frijol negro en polvo.

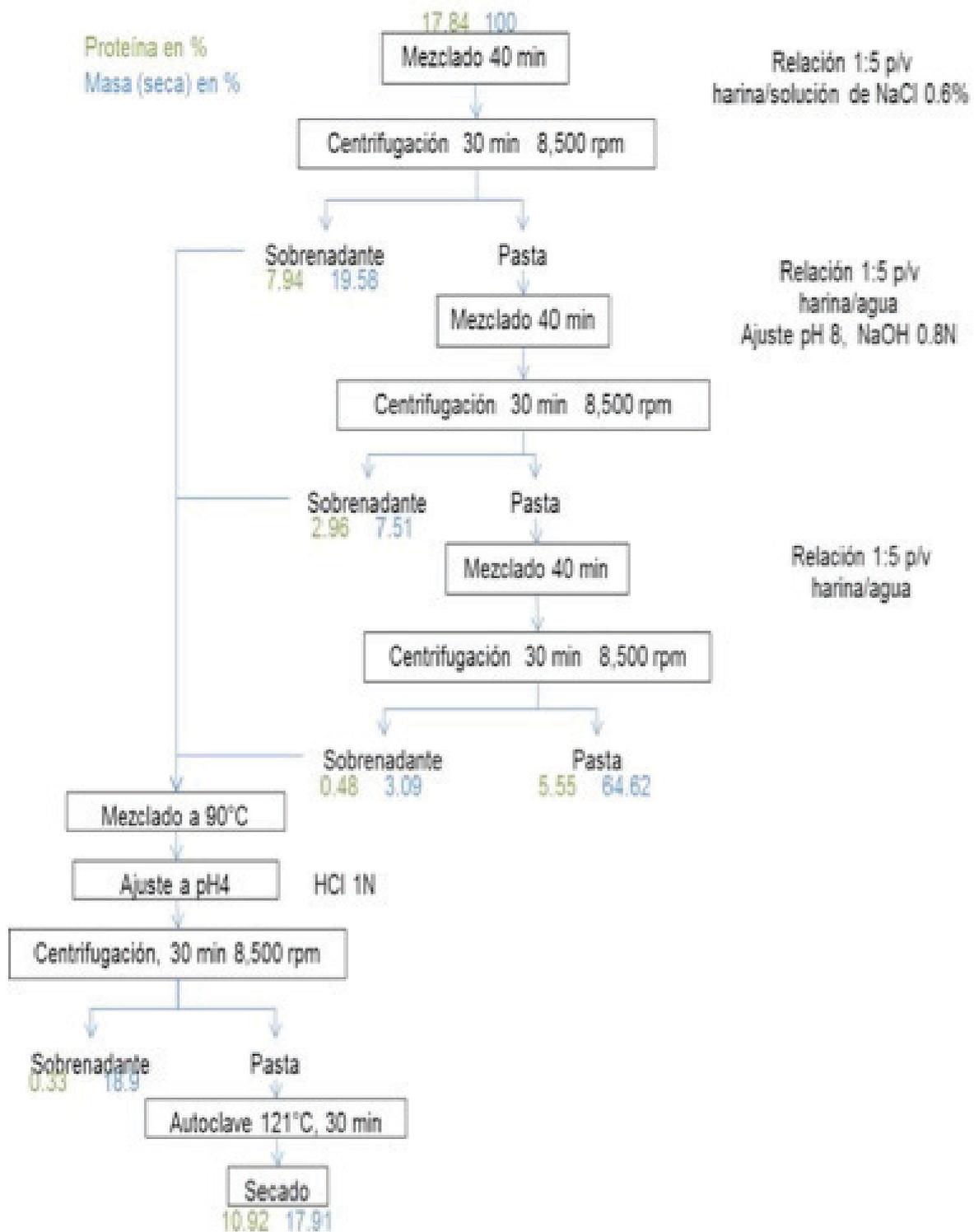


Figura 17. Diagrama de flujo del proceso de aislamiento de proteínas de frijol negro en Planta Piloto desarrollado por Quiñones (2010).

7.2.3. Evaluación de la calidad microbiológica del aislado

Para la determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria que además de mostrar contaminación en el producto pudieran afectar los resultados de los experimentos a realizar, se pesó en condiciones de asepsia una muestra representativa tomada de forma aleatoria del lote de aislado de proteínas de frijol. La muestra fue suspendida al 10 % (m/v) en una solución de agua peptonada al 0.1 % (m/v) a partir de la cual se realizaron diluciones decimales de acuerdo al método descrito por la NOM 110-SSA1-1994. Estas diluciones se emplearon para efectuar las siguientes determinaciones. Para cada determinación se incluyó una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad.

7.2.3.1. Cuantificación de bacterias aerobias

Para la cuantificación de bacterias aerobias en el aislado, se utilizó la técnica de cuenta en placa de bacterias basada en la NOM-092-SSA1-1994 y descrita por Camacho et al. (2009). Se inoculó 1 mL de cada dilución sobre placas estériles a las que se les adicionaron de 15 a 20 mL de Agar Triptona Extracto de Levadura fundido y enfriado a 45 °C, para posteriormente homogeneizarlas con movimientos rotatorios e incubarlas en posición invertida a 37 °C. Los recuentos de dichos microorganismos fueron efectuados a las 24 y 48 horas para reportarlos de acuerdo a la norma.

7.2.3.2. Cuantificación de Coliformes Totales

Para la Cuantificación de Coliformes Totales, se siguió el método de Coliformes Totales por Cuenta en Placa mediante la metodología basada en la NOM-113-SSA1-1994 y descrita por Camacho et al. (2009). Se inoculó 1 mL de cada dilución sobre placas estériles a las que se les adicionaron de 15 a 20 mL de Agar Bilis Rojo Violeta fundido y enfriado a 45 °C, para posteriormente homogeneizarlas con movimientos rotatorios e incubarlas en posición invertida a 37 °C. El recuento de Coliformes Totales se efectuó a las 24 horas y se reportó según la norma.

7.2.3.3. Cuantificación de Mohos y Levaduras

Para la cuantificación de Mohos y Levaduras, se siguió el método descrito en la NOM-111-SSA1-1994. Se inoculó 1 mL de cada dilución sobre placas estériles a las que se les adicionaron de 15 a 20 mL de Agar Papa Dextrosa (PDA) acidificado con ácido tartárico al 0.1 %, fundido y enfriado a 45 °C para posteriormente homogeneizarlas con movimientos rotatorios e incubarlas en posición invertida a 25 ± 1 °C por un periodo de 3, 4 y 5 días y así efectuar el conteo de dichas colonias.

7.2.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

7.2.4.1. Color

Para especificar el color del aislado de proteínas de frijol negro, tener un parámetro de comparación con otros ingredientes alimenticios y como un parámetro de calidad en el proceso que pudiera indicar alguna falla, se determinó el color del aislado obtenido por medio del Sistema de identificación de colores Pantone® (2004).

7.2.4.2. Granulometría

Para determinar la distribución de tamaño de partícula, se pesaron 50 g de aislado y se hicieron pasar a través de las siguientes mallas: 600 µm, 300 µm, 250 µm, 180 µm, 150 µm, 125 µm, 100 µm, 75 µm y 63 µm. Las fracciones retenidas en cada tamiz se pesaron en una balanza analítica y se calculó el porcentaje de sólidos considerando como 100 % los 50 g de aislado iniciales.

7.2.4.3. Densidad

La determinación de densidad se llevó a cabo según lo descrito por Okezie & Bello (1988). Brevemente, en una probeta graduada de 10 mL previamente pesada, se adicionaron dos gramos de aislado. Se conservó en reposo por 24 horas y se obtuvo la cantidad de volumen en mililitros de dos gramos de aislado.

La densidad de la muestra se reportó como $\text{g}_{\text{aislado}}/\text{mL}_{\text{aislado}}$.

7.2.4.4. Determinación de pH

La determinación de pH se llevó a cabo según lo descrito por Okezie & Bello (1988). Brevemente, se pesó la cantidad de aislado necesaria para preparar una solución al 10 % (p/v) y se utilizó como disolvente agua destilada con el pH ajustado a 7. La suspensión se mantuvo en agitación por 30 minutos en una placa agitadora a temperatura ambiente (21 °C) y transcurrido dicho tiempo, se registró el valor de pH con un potenciómetro Beckman®. La determinación se realizó por triplicado.

7.2.4.5. Análisis Químico Proximal (AQP)

Las determinaciones incluidas en el Análisis Químico Proximal: humedad, proteína cruda (Método de Kjeldahl), extracto etéreo, cenizas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (por diferencia); fueron realizadas por el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia, UNAM mediante el Método AOAC Químico Proximal (1990).

7.2.4.6. Determinación de Proteína por el método de Lowry

Brevemente, se prepararon suspensiones de proteína al 1 %. Cada suspensión se sometió a agitación magnética por periodo de 1 hora para posteriormente centrifugar la muestra en una Biofuge Primo R Thermo Scientific Heraeus® a 8500 rpm por 15 min y a Temperatura ambiente (21 °C). La solubilidad de las proteínas en el aislado fue estimada en el sobrenadante por el método de Lowry et al. (1951).

Para obtener el perfil de solubilidad en función del pH, la solubilidad se calculó como los gramos de proteína soluble por 100 g de muestra y por 100 g de proteína según las siguientes ecuaciones:

$$\text{Proteína soluble (g}_{\text{proteína soluble}}/100 \text{ g}_{\text{aislado}}) = (p * \text{FD} * 100)$$

$$\text{Proteína soluble (g}_{\text{proteína soluble}}/100 \text{ g}_{\text{proteína total en el aislado}}) = (p * \text{FD} * C * 100)$$

Donde:

$$p = \left[\frac{A_{750 \text{ nm}}}{m} - b * 10^{-6} \right] = \text{concentración (g/mL) de proteína soluble diluida}$$

(b= ordenada al origen, en este caso 0.0011; m= pendiente, en este caso 0.0011 mL/mg, estas últimas obtenidas de la regresión lineal de la curva patrón)

FD= Factor de Dilución

C= Concentración de proteína en el aislado en gramos

7.2.5. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

7.2.5.1. Perfil de Aminoácidos y Calificación Química

El perfil de aminoácidos (aminograma) de las muestras fue realizado por los Laboratorios Silliker S.A. de C.V. mediante el método PNTQ1339 (HPLC) con un nivel de confianza de 95 %.

La calificación química se realizó según lo indicado en la revisión elaborada por Sarwar & McDonough (1990). Se calculó para los aminoácidos indispensables, la relación en concentración de cada uno con respecto a la cantidad presente del mismo en la proteína de referencia para niños preescolares y adultos según el patrón establecido por la FAO/WHO/UN (1985). Así, aquella relación de aminoácido que presentó el menor cociente conocido como aminoácido limitante es el que determinó el valor de la Calificación Química (CQ) según la siguiente ecuación:

$$\text{CQ} = \left(\frac{\text{AA}_{\text{pf}}}{\text{AA}_{\text{pp}}} \right) \times 100 \dots [\%]$$

Donde:

AA_{pf} = mg de aminoácido indispensable por gramo de proteína de prueba (frijol)

AA_{pp} = mg del mismo aminoácido indispensable por gramo de proteína patrón

Para el cálculo de la Calificación Química corregida por Digestibilidad (PDCAAS por sus siglas en inglés), se realizó el producto de la Digestibilidad Verdadera por la Calificación Química (expresada como fracción) (CQ x DV, [%]).

7.2.5.2. Actividad de Lectinas

Para la determinación de actividad de lectinas, considerado un factor tóxico, se siguió la metodología descrita por Jaffé et al. (1974) utilizando sangre de conejo como fuente de glóbulos rojos. Este método se basa en la actividad específica de estas fitohemaglutininas al unirse a carbohidratos de las células epiteliales del intestino y causar aglutinación de glóbulos rojos. Los resultados se expresan mediante el título obtenido según la dilución que haya sido capaz de causar aglutinación, traducidos así como los mg de muestra necesaria para causar aglutinación de glóbulos rojos. Para contrastar los resultados del aislado, esta metodología también se aplicó en frijol negro crudo, enlatado y deshidratado.

7.2.5.3. Inhibidores de Tripsina

La determinación de Inhibidores de Tripsina siguió el método espectrofotométrico y enzimático descrito por Welham & Domoney (2000), basado a su vez en el de Kakade et al. (1974). Este método se basa en la producción de *p*-nitroanilina (compuesto colorido amarillo) por el rompimiento del sustrato N- α -benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilida (BAPNA) en presencia de tripsina y cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 410 nm tras 10 min de incubación a 37 °C (Figura 18). Así, el inhibidor de tripsina presente en una muestra, se une al lugar activo de la tripsina (inhibición competitiva), lo que limita las posibilidades de actuación de esta enzima sobre el sustrato de la reacción y libera así menos *p*-nitroanilida lo cual se traduce en el desarrollo de un color menos intenso que en la reacción control de tripsina.

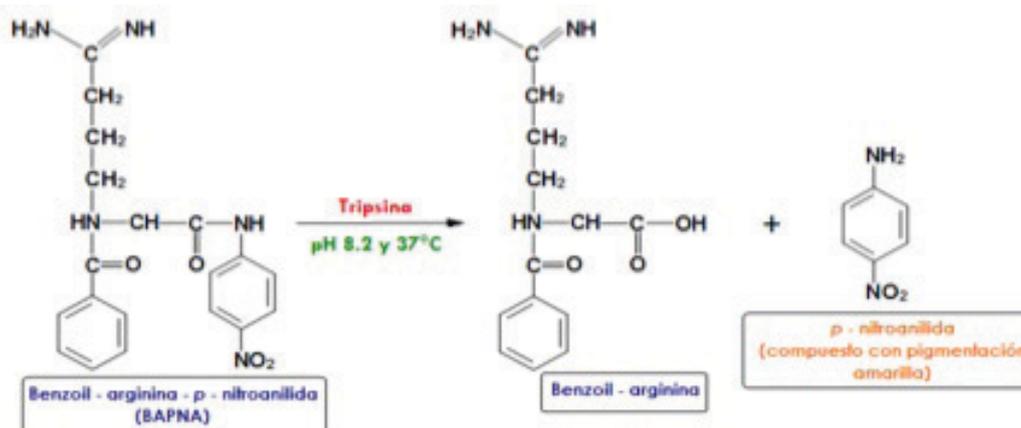


Figura 18. Reacción producida en la cuantificación de las unidades de inhibidores de tripsina por el método enzimático de Welham & Domoney (2000).

La actividad de los inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibidas, de manera que una unidad de inhibidores de tripsina (UIT) es la cantidad de inhibidores que reduce 0.01 unidades de absorbancia, en relación con la reacción control de tripsina.

7.2.5.4. Cuantificación de Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)

La determinación de antocianinas monoméricas totales (AMT) se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Giusti & Wrolstad (2001). Ésta, se basa en las transformaciones estructurales que sufren las antocianinas monoméricas con un cambio en el pH, mediante el cual los pigmentos adquieren la conformación de catión flavilio (color rojo intenso) a pH 1 y la forma hemiacetal (incolora) a pH 4.5. Las antocianinas pueden tener diversas estructuras reversibles dependiendo de su pH, lo cual influye en sus espectros de absorción. Así, la cuantificación de antocianinas totales se determinó por el método pH-diferencial. Este método permite una medición rápida y precisa de las antocianinas totales, aun en presencia de pigmento degradado polimerizado o en presencia de cualquier otro compuesto interferente.

7.2.5.5. Extracción de pigmentos

Sobre el método de Giusti & Wrolstad (2001), se realizaron las siguientes modificaciones: a 3 g de muestra se añadieron 100 mL de una mezcla de etanol al 25 % en una solución acidificada al 0.8 % (HCl) en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se sometió a una agitación de 180 rpm (agitador orbital Lab-line®), a temperatura ambiente (21 °C) por 24 horas y en condiciones de oscuridad. Posteriormente se filtró para trabajar con el sobrenadante, al cual se le removió el disolvente en un Rotavapor® Buchi R-215 con control de vacío a una temperatura menor de 40 °C hasta llegar a un volumen de extracto aproximado de 10 mL.

7.2.5.6. Semi-purificación

El extracto obtenido se llevó a un embudo de separación donde se adicionó agua destilada y acetato de etilo (1:1) con un volumen de 20 mL aproximadamente para la remoción de sustancias con menor polaridad y se realizaron extracciones sucesivas hasta obtener la fase orgánica (disolvente) transparente en su totalidad. Una vez finalizada esta etapa, se reconcentró la fase acuosa (evidenciada por un color rosa intenso) en Rotavapor® con las condiciones antes descritas hasta llegar a un volumen de 10 mL aproximadamente (García, 2010). Finalmente, el concentrado obtenido se pesó para aforar a 10 mL con H₂O destilada.

7.2.5.7. Cuantificación de Antocianinas

Del concentrado de AMT obtenido, se tomaron los valores de absorbancia máxima a 510 nm (absorbancia de antocianina) y 700 nm (lectura del grado de degradación del compuesto y lectura de corrección de sustancias interferentes) en un espectrofotómetro GBC Cintra de doble haz. Este procedimiento se realizó a pH 1 y pH 4.5 (buffer de cloruros 0.025 M y buffer de acetatos 0.4 M respectivamente). Para el cálculo de la concentración de antocianinas, se empleó la ecuación:

$$\text{Concentración de AMT (mg/L)} = \frac{A * 1000 * PM * FD}{E * L}$$

Donde:

$$A = (A_{\text{pH } 1_{510 \text{ nm}}} - A_{\text{pH } 1_{700 \text{ nm}}}) - (A_{\text{pH } 4.5_{510 \text{ nm}}} - A_{\text{pH } 4.5_{700 \text{ nm}}})$$

PM = Peso molecular de la antocianina predominante en la muestra

FD = Factor de dilución

E = Absortividad molar de la antocianina predominante en la muestra

L = Longitud de celda (1 cm)

7.2.5.8. Perfil proteínico del aislado

Para analizar y corroborar la presencia de las proteínas atingentes al frijol negro, se realizaron los perfiles electroforéticos de los sobrenadantes que contienen las fracciones separadas de globulinas, glutelinas y albúminas del frijol crudo (previo

al tratamiento térmico) en comparación con el aislado proteínico. Asimismo, se determinó la influencia del pH sobre su perfil proteínico. Las electroforesis se realizaron en condiciones desnaturizantes con geles de SDS-PAGE con una concentración en gradiente de 4 – 12.5 % de poliacrilamida.

- *Preparación de las muestras y geles SDS-PAGE*

El perfil proteínico de los tres sobrenadantes obtenidos en el proceso piloto, se obtuvo mediante la metodología sugerida por Schägger et al. (1987) con modificaciones. Para el caso del aislado, además se determinó su perfil en función del pH, para lo cual se prepararon suspensiones al 1 % de proteína (m/v), en las cuales se ajustó el pH al valor deseado (intervalo de pH 2 a pH 8) con HCl 0.1M y NaOH 0.1M.

En ambos casos se calculó el volumen de carga de proteína soluble para el gel (ver sección 7.2.6.1). Se tomaron 30 mL del extracto ajustado a 50 mg de proteína soluble por mL para el caso de los sobrenadantes crudos, y 5 mg de proteína por mL para el caso del aislado. Cada muestra de 30 mL se mezclaron con 5 mL de buffer de carga preparado a partir de 950 mL de buffer Laemmli (BIO-RAD) mezclado con 50 mL de 2-mercaptoetanol con pureza mínima de 98 % (SIGMA). Cada mezcla se agitó vigorosamente en un vortex y se introdujo de inmediato en agua a 92 °C durante 4 min para desnaturizar las proteínas, tras lo cual, se realizó una segunda agitación en vortex. Terminado este procedimiento, los 35 mL totales de cada muestra fueron cargados en los geles junto con el estándar de peso molecular Low Range para SDS-PAGE (BIO-RAD), cuyo rango se localiza entre 14,4 y 97,4 kDa y del cual únicamente se emplearon 5 mL para cada gel.

El buffer, elaborado a partir de 100 mL Tris/Glicina/SDS 10x, diluidos con 900 mL de agua desionizada, fue adicionado en la cámara de electroforesis MiniProtean II (BIO-RAD). Los geles fueron corridos a 80 V y temperatura ambiente (21 °C) por 5 minutos, y posteriormente transferidos a condiciones de refrigeración donde se corrieron a 120 V por 55 min. El peso molecular de las muestras se calculó usando estándares de bajo peso molecular (BIORAD) con: fosforilasa (97.4 kDa), BSA (66.2 kDa), ovoalbúmina (45 kDa), anhidrasa carbónica (31 kDa), inhibidor de tripsina (21.5 kDa) y lisozima (14,4 kDa).

- *Tinción de geles y análisis*

Al terminar la electroforesis, cada gel fue sumergido durante toda la noche, con agitación suave y constante, en 20 mL de solución teñidora de Coomassie. Terminado dicho periodo, la solución de Coomassie fue desechada y los geles se mantuvieron por 40 min en una solución desteñidora. Posteriormente, esta solución fue desechada y los geles se lavaron con agua desionizada en 3 ocasiones para eliminar los residuos de solución desteñidora. Los geles permanecieron sumergidos en agua desionizada antes de ser documentados en el equipo Kodak Image 440 (Urbana, Illinois). Para el análisis de los geles se utilizó el Software Quantity One (BIO-RAD).

7.2.6. EVALUACIÓN FUNCIONAL

7.2.6.1. Solubilidad en función del pH

La curva de solubilidad de las proteínas del aislado fue determinada según la metodología seguida por Makri & Doxastakis, (2006) con modificaciones. El rango de pH establecido fue de pH 2 a pH 8 debido a que la mayoría de los alimentos se encuentran dentro de este rango. Se prepararon suspensiones al 1 % de proteína (m/v) para un volumen final de 100 mL, en las cuales se ajustó el pH al valor deseado con HCl 0.1 M y NaOH 0.1 M.

Cada suspensión se sometió a agitación magnética por periodo de 1 hora para posteriormente centrifugar la muestra en una Biofuge Primo R Thermo Scientific Heraeus® a 8500 rpm por 15 min a Temperatura ambiente (21 °C). La solubilidad de las proteínas en el aislado fue estimada en el sobrenadante por el método de Lowry et al. (1951) según lo descrito en la Sección 7.2.4.6.

7.2.6.2. Capacidad de Absorción de Agua (CAAg)

La Capacidad de Absorción de Agua (CAAg) se midió de acuerdo con el método de Quinn & Paton (1979) con modificaciones. Para la determinación, se colocaron en tubos de centrifuga 3 g de aislado con volúmenes conocidos de agua destilada, se

mezclaron hasta obtener una pasta y se sometieron a centrifugación a 4000 rpm, 10 min y temperatura ambiente (21 °C) en una centrífuga Biofuge Primo R hasta encontrar el volumen de agua que no produjera sinéresis (pero que estuviera completamente húmedo) y el inmediato siguiente que sí la presentara. A partir de esos valores se afinó la selección de volúmenes hasta lograr calcular la capacidad de absorción de agua y expresarla como el promedio del intervalo, cuyos límites fueron establecidos empíricamente, con respecto al peso de la muestra inicial según la siguiente ecuación:

$$CAA_g = \frac{\text{Promedio } V_{a,b}}{m}$$

Donde:

V = volumen de agua adicionado (mL)

m = peso de aislado (g)

7.2.6.3. Humectabilidad

La evaluación de la humectabilidad del aislado se realizó conforme la metodología sugerida por Balmaceda et al. (1984). Brevemente, 1 g de aislado fue transferido a un tamiz malla no. 30 sobre un vaso de precipitados con volumen de 80 mL de agua destilada, con el objeto de esparcir suavemente el polvo sobre el agua para observarse el comportamiento inmediato de la interacción aislado-agua (ver Tabla 8 en sección 2.4.2.1.2). Tras 30 min de reposo, se valoró el estado del sistema y posteriormente fue agitado magnéticamente durante 1 min hasta la formación de un vortex que alcanzó el fondo del vaso para finalmente evaluar la humectabilidad del aislado como excelente, buena, escasa o pobre.

7.2.6.4. Capacidad de Absorción de Aceite (CAAc)

La Capacidad de Absorción de Aceite (CAAc) fue determinada según Lin et al. (1974) con modificaciones. Brevemente, se prepararon muestras de 3 g de aislado en tubos para centrífuga a los que se adicionaron volúmenes conocidos de aceite de maíz, se mezclaron perfectamente con una espátula hasta obtener una pasta y se sometieron a centrifugación a 8500 rpm, 10 min y temperatura ambiente (21 °C) en una centrífuga Biofuge Primo R hasta encontrar el volumen de aceite que no produjera sinéresis y

el inmediato siguiente que sí lo hiciera. A partir de esos valores se afinó la selección de volúmenes hasta lograr calcular la capacidad de absorción de aceite y expresarla como el promedio del intervalo, cuyos límites fueron establecidos empíricamente, con respecto al peso de la muestra inicial según la siguiente ecuación:

$$CAAc = \frac{\text{Promedio } V_{a,b}}{m}$$

Donde:

V = volumen de aceite de maíz adicionado (mL)

m = peso de aislado (g)

7.2.6.5. Propiedades emulsificantes

Para establecer el posible uso del aislado de frijol en formulaciones de alimentos y conocer el efecto de su proteína como anfótero, se determinó el índice de actividad emulsificante y la estabilidad de la emulsión que puede llegar a formar. Para la determinación simultánea del Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y de la Estabilidad de la Emulsión (EE), fue necesaria la preparación de dos corridas de suspensiones de aislado de frijol ajustadas a valores de proteína de 0.1, 0.5, 1 y 5 % (m/v). Una corrida fue ajustada a pH 4 y la otra a pH 7 con HCl 0.1 M o NaOH 0.01 M en un potenciómetro Corning (pH meter, Mod. 340) para enseguida someterlas a agitación constante en una Incubadora Innova™ 4000 a 185 rpm, por 60 min, a 30 °C.

Las muestras se mantuvieron en reposo a temperatura ambiente. A 75 mL de cada suspensión elaborada (fase continua) se añadieron 25 mL de aceite de maíz (fase dispersa) y se homogenizaron en un equipo Janke & Kunkel Ultraturrax (Mod. T25) a 20,500 rpm por 2 min a 21 °C, hasta obtener las emulsiones correspondientes que permitieran medir el Índice de Actividad Emulsificante y la Estabilidad de la Emulsión.

7.2.6.5.1. Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

La medición del Índice de Actividad Emulsificante, fue determinada según el procedimiento descrito por Pearce & Kinsella (1978). Brevemente, se tomó una

alícuota de 200 mL de las emulsiones arriba descritas y se adicionaron 49.8 mL de solución de SDS 0.1 %-NaCl 0.1 M. La densidad óptica (d) de cada dispersión se determinó a 500 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Perkin Elmer, LambdaBio). El Índice de Actividad Emulsificante (IAE) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{IAE (m}^2\text{/g)} = \frac{2 * T * \text{FD}}{\Phi * C}$$

Donde:

$$T = \frac{2.303 * \text{densidad óptica (500 nm)}}{m}$$

M = Longitud de la celda (1 cm en este caso)

Φ = Fracción volumétrica de la fase dispersa (0.25 en este caso)

C = Concentración de la suspensión proteínica (g/m³)

FD = Factor de dilución (250)

7.2.6.5.2. Estabilidad de la Emulsión (EE)

La Estabilidad de una Emulsión (EE) se basa en su resistencia a la coalescencia dada una determinada fuerza centrífuga. Se mide en base al volumen de aceite separado en función del volumen total. Para esta parte experimental, la EE fue medida partir de las emulsiones preparadas (ver sección 7.2.6.5), de acorde a la metodología propuesta por Dargon-Scaviner et al. (1987). Brevemente, se vertieron alícuotas de 12 mL de cada emulsión en tubos para centrifuga con una graduación mínima de 50 mL, se sometieron a centrifugación a 3000 rpm por 10 min (Biofuge Primo R) y a temperatura ambiente (21 °C). La estabilidad de la emulsión se calculó como el porcentaje de aceite coalescido con respecto al volumen de aceite emulsionado (considerado como la cuarta parte del volumen total de líquido en cada tubo), y con base en la siguiente ecuación:

$$\text{Aceite no coalescido} = \frac{V_{ac}}{V_t * \Phi} * 100 \dots\dots [\%]$$

Donde:

V_{ac} = Volumen de aceite coalescido

V_t = Volumen total de la emulsión

Φ = Fracción volumétrica de la fase dispersa (0.25 en este caso)

7.2.6.6. Propiedades de espumado

Para la determinación simultánea de la capacidad de espumado y estabilidad de la espuma, fue necesaria la preparación de dos corridas de soluciones base de aislado elaboradas con suspensiones de proteína al 0.1, 0.5, 1 y 5 % (m/v). Cada corrida fue ajustada a pH 4 y pH 7 con HCl 0.1 M o NaOH 0.1 M en un potenciómetro Corning (pH meter, Mod. 340) y sometidas a agitación constante en una Incubadora Innova™ 4000 a 185 rpm por 60 min a 30 °C. La secuencia de incubación y ajuste de pH se repitió hasta completar un tiempo de 120 min, al término del cual las suspensiones se mantuvieron en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Transcurrida la metodología anterior, se realizó una agitación manual por 10 segundos para posteriormente transferir la solución a una probeta graduada hasta un volumen de 75 mL y de allí a un vaso de precipitados de 150 mL. Las espumas se generaron al homogenizar las suspensiones en un equipo Ultra-Turrax® a 20,500 rpm durante 2 min a temperatura ambiente (21 °C) para posteriormente medir la Capacidad de Espumado y la Estabilidad de la espuma.

7.2.6.6.1. Capacidad de Espumado (CE)

La Capacidad de Espumado (CE) fue determinada inmediatamente después de completar la generación de espuma, para lo cual, la solución con la espuma recién formada fue transferida a la probeta graduada utilizada anteriormente (Sección 7.2.6.6), para finalmente registrar el volumen total del sistema al tiempo cero. La capacidad de espumado se expresó utilizando el término incremento de volumen o sobrerendimiento, sugerido por Lawhon et al. (1972), según la ecuación mostrada a continuación:

$$\text{Sobrerendimiento} = \frac{(V_f - V_{sp})}{(V_{sp})} \times 100 \quad [\%]$$

Donde:

V_f = volumen final del sistema (mL)

V_{sp} = volumen de la suspensión proteínica (mL)

7.2.6.6.2. Estabilidad de la espuma

El monitoreo de la estabilidad de la espuma se efectuó de forma posterior inmediata a la medición de la Capacidad de Espumado mediante la observación del volumen final del sistema en probeta al transcurrir 1, 10, 30, 60 y 120 min, tal como lo sugiere Lin et al. (1974). La estabilidad se representó de forma gráfica como el volumen total del sistema en función del tiempo transcurrido desde la obtención de la espuma.

7.2.7. PROPUESTA APLICATIVA: DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DEL AISLADO PROTEÍNICÓ DE FRIJOL EN FORMULACIONES DE ALIMENTOS

Para determinar el potencial uso del aislado proteínico de frijol en formulaciones de alimentos, se observaron las propiedades funcionales que posee y se contrastaron con usos sugeridos de acuerdo a lo descrito en la Tabla 6 (ver sección 2.4.2).

Una vez afinadas las posibilidades de uso, se decidió ejemplificar futuras aplicaciones del aislado basadas no solo en el sabor, aspecto y conveniencia de los alimentos, sino en la consideración de su valor nutrimental, enfocada en este trabajo por la calidad de proteína, por lo que la complementariedad de los aminoácidos indispensables en la formulación a elegir debía ser el principal punto de consideración. Lo anterior, favoreció el uso de la dupla cereal-leguminosa mediante la elección de dos formulaciones originales cuyo ingrediente mayoritario fuera un cereal y en las que la adición del aislado, se realizara sin mayores problemas tecnológicos. Asimismo, las formulaciones elegidas se tenían que apegar a las siguientes medidas restrictivas: al menos una de ellas debía contener maíz como ingrediente mayoritario (dado su papel como fuente de energía primordial, como integrante representativo de la dieta tradicional mexicana y como acompañante del frijol, desde la siembra hasta su consumo) y al menos otra de las formulaciones debía contar con un consumo representativo en la población urbana de México (dada la búsqueda de productos que acerquen los beneficios del consumo de alimentos de la dieta tradicional mexicana a los gustos actuales y ante los actuales hábitos alimentarios de las poblaciones citadinas).

Así, se decidió utilizar el aislado como módulo funcional en formulaciones de panquecitos de chocolate y “galletas de maíz”, para las cuales la cantidad de aislado a utilizar, se determinó mediante el cálculo de una Calificación Química teórica (CQt) con el uso del perfil de aminoácidos real del aislado en combinación con el perfil de aminoácidos de las formulaciones elegidas (tomado de la literatura), como se muestra a continuación.

7.2.7.1. Determinación de la Calificación Química teórica (CQt) de la adición del aislado a la formulación original elegida

Para determinar la mejor Calificación Química presente en el alimento resultante (mezcla formulación elegida-aislado), se utilizó la metodología y ecuaciones descritas en la Sección 7.2.5.1. Se emplearon mezclas constituidas desde el 1 al 50 % de aislado proteínico de frijol y el porcentaje restante constó de la formulación original a probar (Panquecito de chocolate o galleta de maíz). Se construyeron gráficas de representación para elegir la mejor proporción a utilizar en la formulación final en cuestión.

7.2.7.1.1. Panquecitos de Chocolate (prototipo de producto alimenticio 1)

El perfil de aminoácidos de la formulación de panquecitos de chocolate para el cálculo de la CQt, fue elegido de la base referida en USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010a), *Productos Horneados, cake, snack cakes, cupcakes, chocolate, with frosting, low-fat*, NDB No. 18452. Este aminograma fue utilizado para construir una relación teórica continua del 1 al 50 % de la proteína del aislado con la proteína de formulación original elegida del panquecito, en base seca. La relación de mezcla (formulación original elegida: aislado), se representó de forma gráfica como la cantidad de producto original y aislado necesarios para obtener la mejor CQt traducida como calidad de proteína.

7.2.7.1.2. Galletas de maíz (prototipo de producto alimenticio 2)

El perfil de aminoácidos de la formulación de galletas de maíz para el cálculo de la CQ, fue elegido de igual forma de la base de datos USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010b), en su sección *Cereales, granos y pasta*, Masa Tortilla, Corn flour, masa, enriched, white NDB No. 20017. El aminograma encontrado fue utilizado para construir la relación teórica continua del 1 al 50 % en base seca para la nueva formulación de las galletas de maíz. Se construyó igualmente una representación gráfica para obtener la mejor CQt traducida como calidad de proteína en la formulación final.

7.2.7.2. Elaboración de los prototipos

Una vez obtenidos los resultados de la mejor mezcla según la CQt, se procedió a elaborar los prototipos de panquecito de chocolate y galleta de maíz mediante lo descrito en la base de datos USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2010), aunque con ligeras modificaciones en los componentes no proteínicos. Posteriormente, se corroboró que no existieran cambios no deseables en la apariencia de los productos para posteriormente elaborar prototipos a usar en una prueba de evaluación sensorial que permitiera observar el nivel de agrado de los posibles consumidores.

7.2.7.3. Análisis sensorial

Este análisis se realizó en el anexo del Laboratorio 4D de la Facultad de Química, bajo la supervisión de la Dra. Patricia Severiano Pérez, del Depto. de Alimentos y Biotecnología. En éste, se aplicaron pruebas sensoriales afectivas de los productos trabajados a una muestra de 100 consumidores potenciales (estudiantes y profesores universitarios).

Los consumidores llegaron por cuenta propia mediante invitaciones realizadas por medio de carteles o personalmente en las instalaciones de la Facultad de Química. A cada consumidor se le invitó a pasar a una cabina de evaluación sensorial equipada

con una computadora personal y un plato con 6 muestras de los dos productos a evaluar (Figuras 19 y 20). Posteriormente se les pidió responder un cuestionario electrónico con datos personales (edad, sexo, peso, estatura) y hábitos actuales de compra y consumo de alimentos específicos tras lo cual se les pidió evaluar las muestras presentadas ante ellos mediante pruebas de preferencia y/o grado de satisfacción para finalmente contestar una sección de preguntas acerca del intento de compra (si la persona desea o no adquirir el producto) y precio que pagaría por el producto.

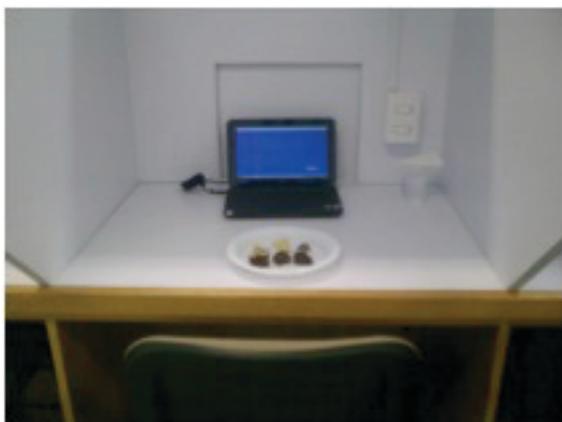


Figura 19. Cabina de evaluación sensorial.

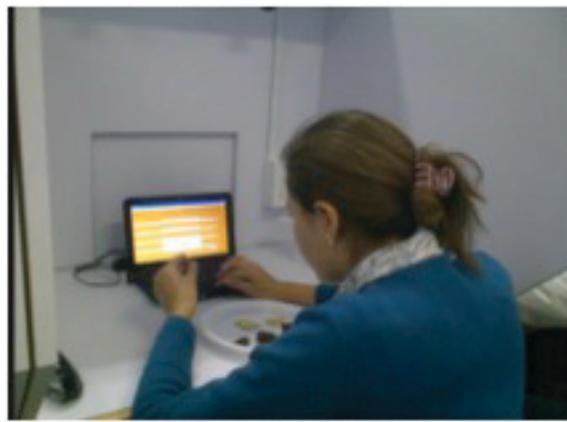


Figura 20. Evaluación de productos.

Cada plato se encontraba provisto en la parte superior, de un número de identificación de consumidor (1 al 100), el cual debía introducir al sistema para poder acceder al cuestionario. También, contenía tres muestras para cada producto a evaluar (triada), las cuales podían ser identificadas por medio de claves otorgadas y distribuidas para cada plato por el Software FIZZ Solutions for Sensory Analysis and Consumer Test (Figura 21).

Para el caso de panquecitos, se evaluó un trozo de tamaño aproximado de 3 x 3 cm de las siguientes muestras:

1. *Panquecito de chocolate adicionado con aislado proteínico de frijol (formulación final).*
2. *Panquecito de chocolate elaborado con la misma formulación anterior pero sin aislado (formulación original elegida) y,*
3. *Panquecito de chocolate comercial (Costco, México).*

Para la formulación de galletas de maíz, también se evaluaron tres muestras de tamaño aproximado de 3 x 3 cm de:

1. *Galleta de maíz adicionada con aislado proteínico de frijol (formulación final)*
2. *Galleta de maíz elaborada con la misma formulación anterior pero sin aislado (formulación original elegida) y,*
3. *Galleta de maíz comercial (Salmas, Sanissimo®).*

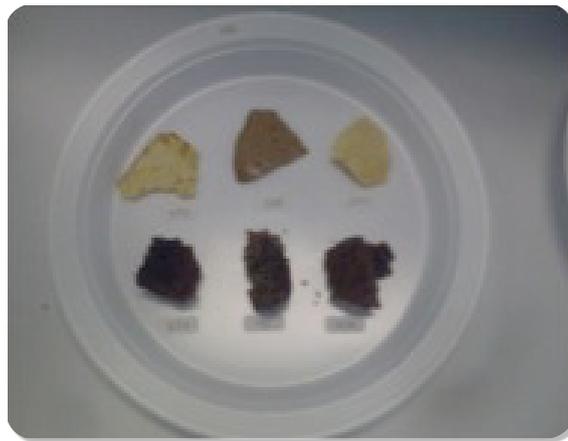


Figura 21. Acomodo de las triadas de productos evaluados.

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los atributos de las diferentes muestras, los resultados obtenidos se sometieron a un Análisis de Varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de 95 %. Los cálculos se realizaron mediante el empleo de los programas Stat Graphics 5.1 for Windows Professional Edition y el Software FIZZ Solutions for Sensory Analysis and Consumer Test (BIOSYSTEMES, versión 2.30c, Francia).

8. Resultados y Discusión

8.1. OBTENCIÓN DE UN AISLADO DE PROTEÍNAS DE FRIJOL NEGRO

El proceso piloto realizado, logró la recuperación de las diferentes fracciones proteínicas contenidas en el frijol negro. Durante el proceso se observó que la extracción consecutiva de las diferentes proteínas generaba turbidez en las suspensiones con un color único. La primera extracción de proteínas (globulinas), mostró su solubilización en una solución grisácea (debido a la extracción de compuestos fenólicos constituyentes de la cascarilla del frijol negro). La segunda extracción de proteínas (glutelinas) evidenció la presencia de antocianinas (compuestos fenólicos), las cuales poseen un color azul en condiciones alcalinas. La tercera extracción (albúminas) mostró una solución color azul, ligeramente más claro que en el punto anterior, debido a que todavía se encontraban estos pigmentos y el pH aún era alcalino. Para la precipitación isoelectrónica de las proteínas, se juntaron los sobrenadantes de las extracciones ("pool") y se sometieron a 90 °C, con la subsecuente obtención de la desnaturalización de las proteínas para consecutivamente ajustar el pH a 4 y lograr su precipitación, posterior a lo cual se recuperaron las mismas y se sometieron a secado.

Por el interés que existe en patentar el proceso mejorado, se han omitido detalles y pasos intermedios realizados, los cuales constituyen las mejoras al proceso.

Sin embargo, es posible mencionar a grandes rasgos los resultados obtenidos del proceso y realizar una pequeña comparación con el proceso original (Tabla 10).

Tabla 10		
Comparación entre procesos para obtención de aislado proteínico de frijol negro		
	Proceso original (Quiñones, 2010)	Proceso mejorado (Este estudio)
Cantidad inicial muestra (g) (Frijol Molido)	12 000	12 000
Aislado seco obtenido (g)	1716 ± 57 ^a	1824 ± 44 ^b
Rendimiento neto aislado en masa (%)	14.30 ± 0.47	15.20 ± 0.37
Rendimiento obtención de proteína (%)	48.84 ± 1.62	58.38 ± 1.4
Tiempo total de proceso (h)	41	19
^a Promedio de dos lotes (batch) ^b Promedio de tres lotes (batch) Nota: determinaciones realizadas en base húmeda		

El rendimiento en masa y proteína del proceso exhibe, como era de esperarse, algunas diferencias numéricas. En cuanto al rendimiento en masa, el proceso original fue de 14.3 %, en contraste con el proceso mejorado, el cual logró un rendimiento del 15.2 %, estos números son cercanos al 17 %, que es la cantidad de proteína presente en la materia prima, a la cual debían estar cercanos los resultados para que el proceso fuera considerado como bueno. El porcentaje restante (84.8 % para el proceso mejorado), forma parte de los subproductos que pueden ser recuperados posteriormente.

En cuanto al rendimiento en proteína, que muestra la cantidad de proteína extraída del total presente en la muestra, para el caso del proceso original fue de 48.8 %, en contraste con el proceso mejorado cuyo rendimiento fue de 58.4 %, casi 10 puntos porcentuales mayor, lo cual favoreció, como se observa, la obtención de una concentración mayor de proteína en el aislado final. El porcentaje restante (41.6 %) indica que existe una proporción elevada de proteína que no pudo ser extraída en el proceso y que representa una oportunidad de estudios futuros.

Por otra parte, es posible observar que la diferencia principal entre los procesos de aislamiento de proteínas de frijol fue el tiempo total empleado, lo cual determina en gran medida el costo de manufactura de un producto. Mientras que el proceso original implicaba una inversión de 41 horas, el proceso mejorado redujo el tiempo más de la mitad con una inversión de 19 horas totales, desde la toma de muestra inicial hasta la obtención del aislado seco. Además, esta mejora proveyó de un aspecto más homogéneo (Figura 22) y características funcionales interesantes al aislado resultante, como se podrá observar en la sección 8.5.

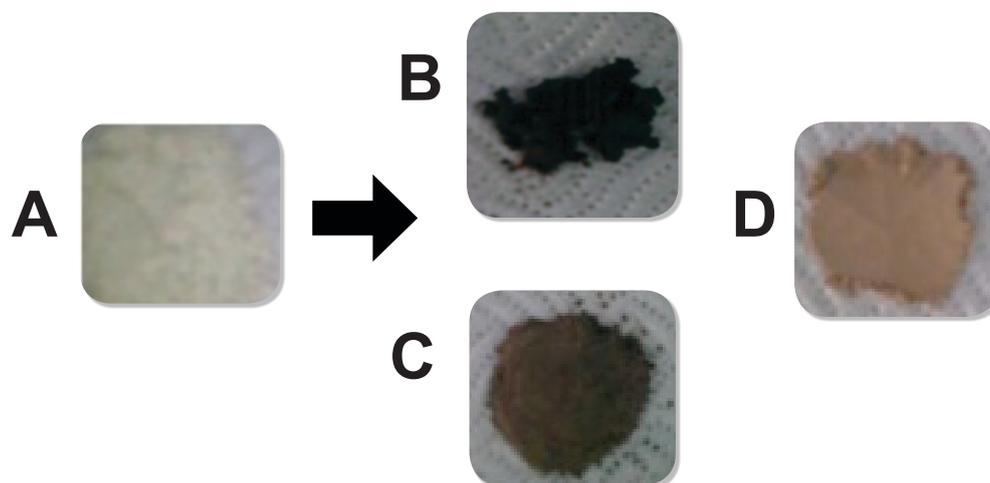


Figura 22. Comparación entre materia prima y aislados proteínicos de frijol negro. (a) frijol negro molido (materia prima), (b) aislado original (Quiñones, 2010) (c) aislado original (Quiñones, 2010) con molienda, (d) aislado obtenido con proceso mejorado.

Sin embargo, la decisión de mejorar el proceso no fue atribuible inicialmente al rendimiento o al tiempo de proceso, sino a que el aislado original no podía ser evaluado positivamente para los fines tecnológicos deseados en esta Tesis. Lo anterior debido a las propiedades que mostraba: cristales prácticamente insolubles en agua que, de acuerdo a experimentos no publicados del grupo de trabajo, presentaban una baja absorción de agua y no contaban con capacidad para formar espuma ni emulsificar, además de requerir una molienda posterior para homogeneizar el producto y poder ser analizado mejor. Esto, resultaba extraño a las propiedades presentadas por alimentos cuyo componente mayoritario es proteína vegetal (Damodaran, 2008) por lo que los cambios a realizar tendrían que comprobarlo.

Esta decisión, terminaría por definir el rumbo del aislado, replicando así el proceso con el objetivo de obtener producto suficiente para su análisis posterior según la estrategia experimental de este trabajo. Sin embargo, es de destacarse que el rendimiento de proteína obtenida en el proceso mejorado, aún necesita afinarse para poder competir comercialmente con los rendimientos en la industria de los aislados proteínicos, donde los de soya son del alrededor del 90 % (Cogan, 1967, Parris & Gillespie, 1988).

En este sentido y en comparación con el proceso de aislamiento de soya, es posible analizar que los rendimientos son menores para el frijol debido a diversos factores:

En primer lugar, existe más del doble de proteína en los granos de soya que en los granos de frijol, lo cual aumenta la cantidad de proteína a extraer. En segundo lugar, la cantidad de proteína en la muestra a aislar aumenta, debido al uso de hojuelas de soya o harina, ambas desengrasadas. En tercer lugar, el proceso de aislamiento es diferente al usado para el caso del frijol debido a que las proteínas son diferentes, así como también la concentración de cada proteína según su solubilidad. Finalmente, para aislar proteína de soya, se han reportado diversos métodos, siendo el tradicional el que incluye: desengrasado de hojuelas o harina, extracción de proteínas (solubilización en agua y ajuste a pH 7.5-9 con soluciones alcalinas; agitación por 45-60 min y tratamiento térmico a $>80^{\circ}\text{C}$), separación del extracto líquido (usualmente por decantación), tratamiento del extracto (uso de carbón activado, ultrafiltración, entre otros); acidificación (pH 4.5) para precipitación isoeléctrica de proteínas, separación de proteína sólida (filtración, centrifugación o decantación), lavado con agua y secado (Berk, 1992; Cho et al., 2008).

Así, en comparación con la soya, el proceso de aislamiento de proteínas frijol lleva a cabo algunos pasos diferentes que, grosso modo, incluyen operaciones unitarias separadas y la inexistencia de tratamiento del extracto (principalmente para conservar las antocianinas), por lo que probablemente una mejor extracción de las proteínas puede ser el paso decisivo para un mejor rendimiento. Sin embargo, a pesar del alto rendimiento de aislados de soya, existen detalles como problemas de alergenicidad o bien, uso de soya transgénica (a la que se le han atribuido problemas de salud), que no existen en el uso de frijol y que lo dotan de ventajas competitivas ante un consumidor cada vez más informado.

8.2. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AISLADO

El resultado de la evaluación microbiológica del aislado proteínico de frijol negro se muestra en la Tabla 11. La comparación entre los límites máximos establecidos para los tres grupos de microorganismos indicadores fue en referencia a diversas Normas Mexicanas (NOM y NMX).

Tabla 11	Calidad microbiológica del aislado en comparación con límites máximos permitidos en diversos productos.		
	Mesófilos aerobios ¹ UFC/g muestra	Coliformes totales ² UFC/g muestra	Mohos ³ UFC/g muestra
Aislado proteínico de frijol negro	<10 (sensibilidad del método)	<10 (sensibilidad del método)	8 (valor estimado)
Productos esterilizados comercialmente (alimentos con pH ≤4.6) ^a	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Frijol precocido deshidratado ^b	ND	ND	50
Harina de maíz ^{c,f}	100 000	100	1000
Harina de maíz nixtamalizada ^{c,f}	50 000	100	1000
Productos de panificación (pasteles, panques y pays) ^{c,f}	10 000	20	50
Galletas ^f	3 000	<10	ND
Tortilla de maíz ^e	ND	<30	ND
Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas ^e	ND	100	ND
Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas ^f	10 000	300	<30

^aNOM-130-SSA1-1995, ^bNMX-F-378-S-1980, ^cNOM-147-SSA1-1996, ^dNMX-F-006-1983, ^eNOM-187-SSA1/SCFI-2002, ^fNOM-247-SSA1-2008. ND= No Disponible.

¹Bacterias mesófilas aerobias incubadas por 24 ± 2h a 35 ± 2 °C.

²Bacterias coliformes totales incubadas por 24 ± 2h a 35 ± 2 °C

³Mohos incubados por 72 ± 2h a 25 ± 1 °C

Los resultados de los análisis microbiológicos, demostraron que el tratamiento térmico (esterilización) al que fue sometido el aislado de proteína de frijol negro resultó ser eficiente, por lo que la verificación de eliminación del riesgo en el Punto Crítico de Control se cumplió en cuanto a parámetros de uso como materia prima. Lo anterior verifica además, las buenas prácticas de manufactura (BPM) del producto una vez terminado el tratamiento térmico y sometido a secado. La idea de comparar diversos productos alimenticios con el aislado radica en que no existen normas disponibles que regulen el contenido microbiológico en aislados, por lo que compararlo con productos a los cuales se desea adicionar éste, nos puede dar una idea general de límites finales.

8.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

8.3.1. Color

La identidad visual de los aislados por medio del Sistema de Identificación de colores Pantone® (2004), mostró una diferencia entre los mismos, siendo para el aislado obtenido con el proceso original, un color café correspondiente al 4635U, en contraste con el aislado obtenido con mejoras al proceso, cuyo tono corresponde al número 4735C (Tabla 12).

Tabla 12 Identificación de los aislados según la Guía de colores PANTONE®		
Muestra	PANTONE®	
Aislado obtenido con mejoras al proceso	4735C	C= coated paper
Aislado obtenido con proceso original	4635U	U= uncoated paper

Como se mencionó anteriormente, una guía para identificar un posible cambio o alteración en el proceso, puede ser mediante el color del producto final. En este caso, las mejoras al proceso se percibieron visualmente y en primera instancia por medio del color. El color café más intenso para el aislado obtenido mediante el proceso original, puede atribuirse a la caramelización de los azúcares remanentes en el proceso, debido a las condiciones de tiempo-temperatura al que fue sometida

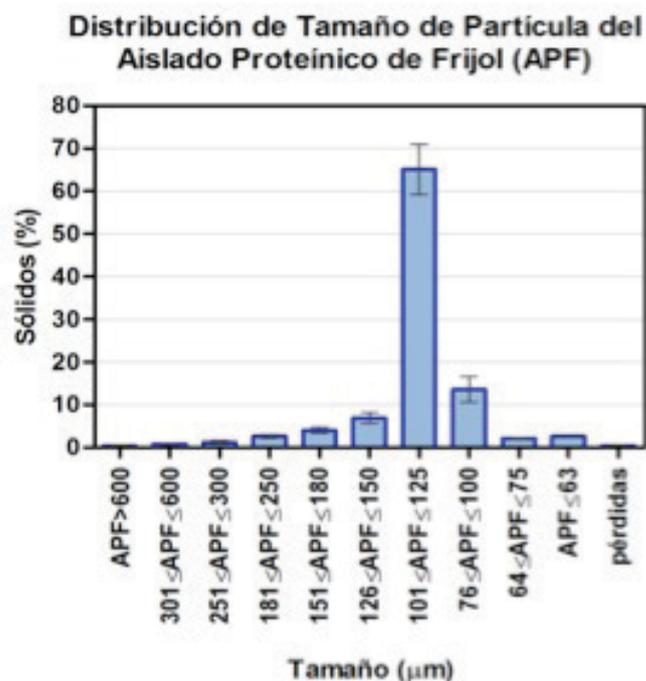
la muestra (secado lento en charolas: 60 °C continuos por 48 h), condiciones diferentes a las usadas en el proceso mejorado y las cuales incluyen el uso de un secador por aspersión.

8.3.2. Granulometría

La granulometría de un polvo como el aislado consistió en obtener una representación tabular o gráfica, del nivel en que las diferentes fracciones de tamaños que conforman dicho polvo contribuyen al total de los tamaños presentes en éste. La Figura 23 muestra que el mayor porcentaje del aislado proteínico de frijol (65.12 ± 5.90 %) presenta tamaños de partícula entre 101 y 125 μm ; el 13.57 ± 2.98 % corresponde a partículas entre 76 y 100 μm ; el 6.94 ± 1.26 % a partículas entre 126 y 150 μm y el resto de tamaños de partícula, corresponden a menos del 5 % del aislado total; del cual el 0.38 % pertenece a partículas con un tamaño mayor a 300 μm . Asimismo, cabe destacar que la porción retenida en la malla de 600 μm y correspondiente a un tamaño de partícula mayor a este número, se encuentra compuesta principalmente por cascarilla remanente, aunque resulta no perceptible a simple vista.

Por convención común, para que un sistema de partículas sea considerado un

Figura 23. Granulometría del aislado proteínico de frijol.



“polvo”, su tamaño mediano aproximado debe ser menor de 1 mm (Ortega-Rivas, 2006). Así, el aislado proteínico de frijol puede describirse como un polvo que, según la Farmacopea Británica, puede considerarse fino debido a que prácticamente toda la muestra pasa por la malla de 180 mm. Lo anterior, define además, que el aislado tenga muy bajas probabilidades de provocar sensación arenosa, percibida en polvos con proporciones altas de partículas mayores a 300 mm y cobra particular importancia si se desea su adición a formulaciones de alimentos homogéneas. A nivel comparativo, este aislado presenta un intervalo de tamaño mediano de partícula de 101 a 125 mm, el bicarbonato de sodio un tamaño menor a 150 mm, la cocoa en polvo de 53 a 75 mm, sal común de 210 a 300 mm y azúcar granulada de 355 a 500 mm (Ortega-Rivas, 2006).

8.3.3. Densidad

Los resultados de la determinación de densidad mostrados en la Tabla 13, evidencian un aumento en la densidad aparente del aislado de frijol en contraste con la materia prima (frijol negro crudo molido, también llamado harina de frijol negro). Por otro lado, a nivel comparativo, la densidad del aislado proteínico de frijol negro es mayor que la del aislado de soya cuyo valor es 0.48 g/mL (Okezie & Bello, 1988). Dichos aumentos se pueden explicar debido a dos factores: el primero es el tamaño de partícula de cada muestra (a mayor tamaño de partícula, mayor será el espacio entre estas y por lo tanto el espacio real de ocupación incrementará notablemente); el segundo factor, por otro lado, puede atribuirse a la higroscopicidad de las muestras, que también dependerá de las condiciones de trabajo (manejo de la muestra y humedad relativa/ temperatura del lugar de trabajo). Dados los múltiples estudios de aislados de soya dirigidos a diversos nichos de mercado, es difícil comparar un resultado de tamaño de partícula para una densidad, sin embargo, los aislados de soya en polvo comerciales, visualmente presentan un tamaño de partícula ligeramente mayor al del aislado proteínico de frijol negro.

Tabla 13		Densidad aparente de productos de frijol a 21 °C		
	Harina de frijol negro	Aislado proteínico de frijol negro	Aislado comercial de soya	
Densidad (g/mL)*	0.53 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.48	
Densidad (kg/m³)	530 ± 20	610 ± 20	480	

Determinación realizada por triplicado*

La importancia de la densidad en la industria de alimentos es crucial pues permite la caracterización de un ingrediente o producto en condiciones variables, sobre todo, en las operaciones de agitación y preparación, en las que el contenido de ingredientes o productos en los depósitos o bien, en el empaque final del alimento, puede variar y donde la temperatura juega un papel primordial. Así, este tipo de datos es elemental en el escalamiento de un proceso a nivel piloto o industrial.

8.3.4. Determinación de pH

La determinación potenciométrica del pH en suspensiones de aislado al 10 % en agua destilada, demostraron la acidez del producto (Tabla 14). Dicho valor concuerda con el proceso de aislamiento, en el que una vez extraídas las proteínas por solubilización diferencial, se llevaron a pH 4 (precipitación isoeléctrica) y ese mismo pH se mantuvo en el resto del proceso. Este valor, pudiera acidificar las formulaciones de alimentos en las que se desee implementar el aislado, por lo que será de gran importancia conocer si la acidez del aislado pudiera provocar algún efecto negativo en el sabor de la formulación a la que se pretenda adicionar.

A nivel comparativo, el pH en suspensiones de aislado de soya al 10 % es 7.0 (Okezie & Bello, 1988), lo cual no acidifica los productos a los que son adicionados.

Tabla 14 Determinación de pH del aislado proteínico de frijol a 21 °C

	Harina de frijol negro al 10 % (m/v)	Aislado proteínico de frijol negro al 10 % (m/v)	Aislado comercial de soya al 10 %
pH*	6.489 ± 0.006	3.942 ± 0.004	7.0

*Determinación realizada por triplicado

Los valores de pH en suspensión son importantes debido a que algunas propiedades funcionales como la solubilidad, propiedades de batido y propiedades emulsificantes son afectadas en gran proporción por los cambios de pH (McWatters & Cherry, 1977).

8.3.5. Análisis Químico Proximal (AQP)

En la Tabla 15 se presentan los resultados del Análisis Químico Proximal (AQP) del aislado de proteínas de frijol negro en comparación con frijol negro crudo y frijol negro cocido.

Los resultados del frijol negro crudo utilizado en este trabajo de investigación, muestran ligeras desviaciones en comparación con de lo descrito por la USDA (2010c). En cuanto a la cantidad de proteínas, el porcentaje presente en el frijol crudo utilizado es del 19.34, en contraste con el 24.28 % reportado por la USDA. Así, es de esperarse que los datos restantes de AQP obtenidos en este estudio, presenten alguna variación a los reportados por la USDA. Para el caso de lípidos y cenizas, el estudio realizado muestra un porcentaje de 1.83 y 4.48 respectivamente, cantidades que no muestran diferencias significativas en comparación con las cifras reportadas por la USDA (2010c): 1.60 % para lípidos y 4.05 % para cenizas). En cuanto a los hidratos de carbono, el frijol negro crudo muestra una proporción de 70.28 (o 74.36 si se considera la fibra), lo cual es mayor a lo reportado por la USDA: 70.08 %. Sin embargo, estas diferencias pueden deberse entre otros factores, a las confusiones producto de la variación morfológica inter e intraespecie, provocada por alteraciones en la distribución natural de *Phaseolus* (Delgado-Salinas et al., 2006) o bien, a las condiciones de siembra y cosecha del frijol en cuestión (lugar, tipo de suelo, fertilización, temperatura ambiental, entre otros).

Tabla 15 Análisis Químico Proximal (AQP)* de frijol negro crudo, cocido y en aislado

	Frijol negro crudo (materia prima) ^a	Frijol negro cocido (cocción casera) ^{**b}	Aislado proteínico de frijol negro ^c
Proteína cruda (Nitrógeno*6.25 ^{***})	19.34 ± 0.07	19.24 ± 0.01	71.67 ± 0.01
Extracto etéreo (lípidos)	1.83 ± 0.12	1.71 ± 0.04	4.56 ± 0.02
Cenizas	4.48 ± 0.12	4.66 ± 0.01	5.26 ± 0.04
Fibra cruda	4.08 ± 0.07	5.94 ± 0.02	0.99 ± 0.08
Extracto libre de nitrógeno (carbohidratos)	70.28 ± 0.01	68.44 ± 0.04	17.53 ± 0.04

*Resultados expresados en base seca.

**Semillas de frijol negro sometidas a cocción en olla exprés a 121 °C por 60 min con posterior molienda y secado por corriente de aire a temperatura ambiente

Porcentaje de Humedad: 7.74 % (a), 6.96 % (b), 4.38 % (c)

*** El factor de conversión calculado para frijol es 6.25, comparado con el de soya que es de 5.71. Fuente: FAO (1970). Método AOAC Químico Proximal (1990). Realizado en el Laboratorio de Análisis Químicos para Alimentos, Depto. de Nutrición Animal y Bioquímica, FMVZ, UNAM.

Por otro lado, la similitud en los nutrimentos presentes en el frijol negro crudo y el frijol negro cocido, resulta acorde a lo establecido en la literatura (USDA, 2010d). No existen cambios drásticos importantes en la composición de los frijoles crudos y cocidos. La diferencia principal entre estas dos muestras radica, por otra parte, en la biodisponibilidad de proteínas y eliminación de factores tóxicos y antinutricionales (Jacinto-Hernández & Campos-Escudero, 1993) que hacen del proceso de cocción la operación clave para el consumo de frijol.

En cuanto a la comparación del frijol cocido (cocción casera en olla exprés, como medio popular de uso), con el aislado proteínico, se puede observar que la cantidad de proteína en el aislado es casi cuatro veces mayor, lo cual a su vez implica la subsecuente disminución de 4 veces del contenido de carbohidratos en el aislado.

En lo referente al extracto etéreo, el cual no necesariamente está conformado por lípidos, se encuentra en una mayor cantidad en el aislado, resultado que puede ser atribuido al proceso mismo que se centra en concentrar nutrientes. Finalmente, en cuanto a fibra cruda, el resultado obtenido era el esperado (4 veces menor), debido a que durante el proceso, el subproducto sólido de desecho conjuntó la mayor parte de fibra y carbohidratos contenidos en la harina de frijol y que, sin embargo, pueden ser recuperados mediante estudios futuros.

8.4. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

8.4.1. Perfil de Aminoácidos

Los resultados del perfil de aminoácidos (aminograma) del aislado de proteína de frijol en comparación con frijol crudo y frijol cocido se exponen en la Figura 24.

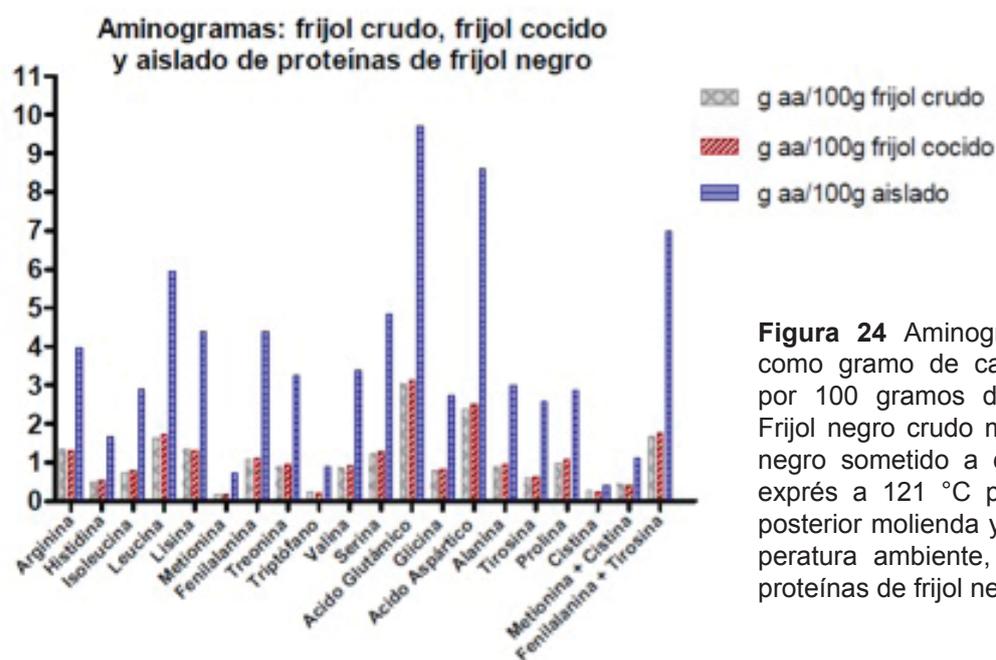


Figura 24 Aminograma mostrado como gramo de cada aminoácido por 100 gramos de muestra: (a) Frijol negro crudo molido, (b) Frijol negro sometido a cocción en olla exprés a 121 °C por 60 min con posterior molienda y secado a temperatura ambiente, (c) aislado de proteínas de frijol negro.

El aminograma de frijol crudo en comparación con el de frijol cocido no muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) en cuanto a concentración de aminoácidos, lo cual confirma el resultado mostrado previamente por el AQP. De manera contraria, sí

existen diferencias entre las concentraciones de aminoácidos presentes en el aislado de frijol y en el frijol (crudo y/o cocido), las cuales son casi cuatro veces mayores en el aislado y cuyo resultado es totalmente atribuible al proceso de aislamiento. De igual forma, el resultado anterior se puede comprobar para cada muestra mediante la comparación entre la suma de concentraciones de aminoácidos y la proteína reportada en su respectivo AQP.

Por otra parte, al realizar una comparativa entre el frijol crudo, el frijol cocido y el aislado de frijol (en g de aminoácidos indispensable/100 g de proteína), se observa que la concentración de los aminoácidos indispensables presentes en las muestras (a excepción de los aminoácidos azufrados en el caso de los niños) cumplen con el requerimiento de la FAO/WHO/UN (1985) (Figura 25).

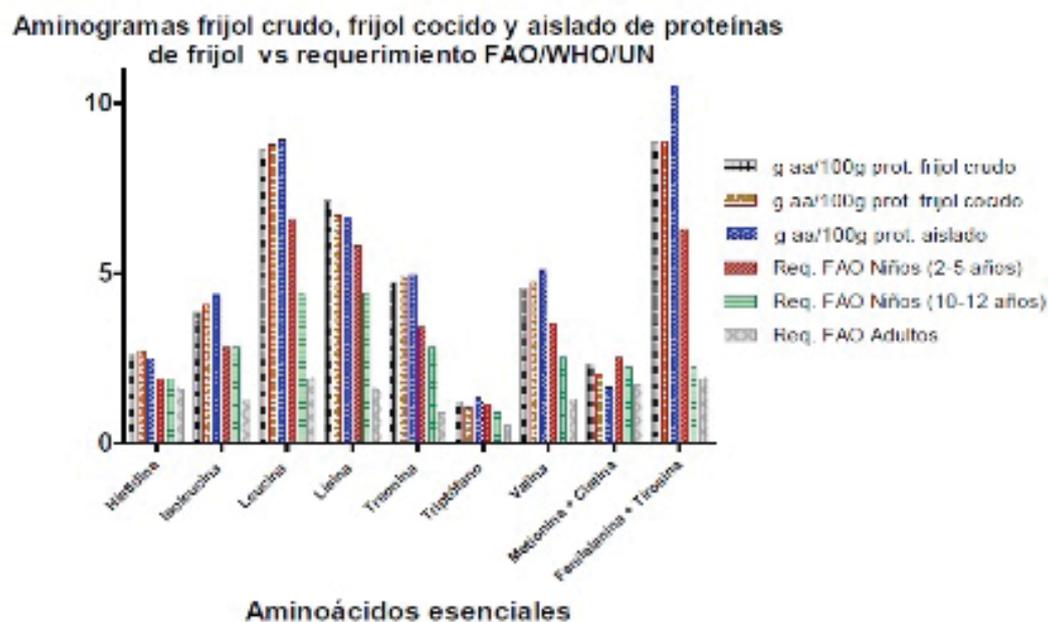


Figura 25. Perfil de aminoácidos (aminograma) mostrado como gramo de cada aminoácido por 100 gramos de proteína de cada muestra: (a) Frijol negro crudo molido, (b) Frijol negro sometido a cocción en olla exprés a 121 °C por 60 min con posterior molienda y secado a temperatura ambiente, (c) Aislado de proteínas de frijol negro, (d) Requerimientos definidos en g aa/100 g proteína (FAO/WHO/UN, 1985).

Así, y al realizar el cálculo para conocer la Calificación Química del aislado (Tabla 16), se observa que a pesar de los beneficios de la proteína de frijol, ésta necesita ser complementada en aminoácidos azufrados (metionina + cistina), cuya concentración es menor para el caso de los requerimientos de niños, aunque muy cercana al

requerimiento de adultos. Sin embargo, que el frijol cuente con niveles inferiores de metionina (como aminoácido azufrado) no resulta del todo desfavorable según lo sugerido por Márquez (2011), esto debido a que la homocisteína (compuesto que en altas concentraciones es indicativo de riesgo cardiovascular) es generada por el metabolismo de la metionina, y según los estudios realizados en este sentido, se ha indicado que posiblemente las proteínas de origen vegetal, al tener un menor contenido de aminoácidos azufrados presenten menor riesgo aterogénico en comparación a las proteínas de origen animal.

Tabla 16 Comparación de aminoácidos en el aislado proteínico de frijol con los requerimientos FAO/WHO/UN para conocer su CQ y PDCAAS

<u>Requerimientos de aminoácidos (mg_{aa} /g_{proteína})</u>				
Aminoácido	Niños preescolares (2-5 años)	Niños escolares (2-5 años)	Adultos	Aislado proteínico de frijol negro
Histidina (His)	19	19	16	24.9
Isoleucina (Ile)	28	28	13	43.6
Leucina (Leu)	66	44	19	89.7
Lisina (Lys)	58	44	16	66.4
Metionina y cistina (Met, Cys)*	25	22	17	16.7
Fenilalanina y tirosina (Phe, Tyr)	63	22	19	105.2
Treonina (Thr)	34	28	9	49.4
Triptófano (Try)	11	9	5	13.3
Valina (Val)	35	25	13	51.0
Calificación Química y PDCAAS				PDCAAS**
	Preescolares			50.1
	Escolares			56.9
	Adultos			73.6
*Aminoácidos limitantes				
**Se considera una digestibilidad de 75 % (Damodaran, 2008).				

Con base en lo anterior, se puede comprobar que en las formulaciones de alimentos donde se desee la implementación del aislado, el mejor prototipo será aquel alimento que cuente con algún cereal como ingrediente base, debido a que es un alimento de origen vegetal que cuenta con cantidades mayores pero no excesivas de metionina (complementación lisina y triptófano en el frijol con aminoácidos azufrados de cereales).

Finalmente y por otro lado, es necesario recalcar que dadas las unidades mostradas en la Figura 25 y para que la relación de dicha gráfica se cumpla a cabalidad, es necesario que una muestra contenga 100 g de proteína, lo cual equivale a contar con 561 g de frijol crudo o 558 g de frijol cocido deshidratado o, 146 g de aislado, lo cual evidentemente es favorable para el caso del aislado.

8.4.2. Actividad de Lectinas

Los resultados de la actividad de lectinas en las diversas muestras de frijol son descritos mediante el título obtenido según la dilución que haya sido capaz de causar aglutinación. La expresión utilizada para denotar el contenido de lectinas es mediante los mg de muestra necesaria para causar aglutinación de glóbulos rojos, lo cual produce un efecto tóxico en la persona que los consume y que se manifiesta por una baja absorción intestinal de nutrientes provocada por el bloqueo de la digestión proteínica lo cual produce en primera instancia, edema en intestino.

La Figura 26 muestra la prueba visual para establecer la dilución que provocó aglutinación de glóbulos rojos. En el primer tubo se observa la aglutinación de los glóbulos rojos mediante la formación de un coágulo que al agitar, permanece intacto; el segundo tubo es una prueba considerada como falso positivo debido a que aunque se observa un pequeño coágulo en el fondo del tubo, al agitar, este coágulo desaparece por lo que se considera finalmente como una prueba negativa y finalmente, el tercer tubo muestra el control, donde no se observa aglutinación.

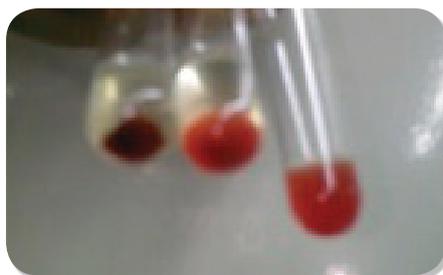


Figura 26. Pruebas para determinación de lectinas en aislado proteínico de frijol.

Así, los resultados de la determinación semicuantitativa de lectinas para el aislado proteínico de frijol se muestran en comparación con otras muestras de frijol en la Tabla 17.

Tabla 17 Determinación semicuantitativa de lectinas en diferentes muestras de frijol

	Título	mg necesarios para causar aglutinación
Frijol negro crudo	7	156.25
Aislado proteínico de frijol negro	NAg**	NAg**
Frijol negro comercial enlatado***	1	500 000
Frijol negro comercial deshidratado***	1	400 000

*Determinación realizada por triplicado, ** No Aglutinación visible (1 g de aislado inicial de frijol)

Los resultados obtenidos muestran que 156 mg de frijol negro crudo provocan la aglutinación de glóbulos rojos y por lo tanto, la manifestación inicial del efecto tóxico. Sin embargo, durante la obtención del aislado de proteínas totales de frijol negro y específicamente durante la aplicación de calor (esterilización: 60 min a 121 °C), se observó que las condiciones fueron suficientes para determinar la disminución mediante desnaturalización de este tipo de proteínas. Con base en los resultados obtenidos, se necesitaría realizar una determinación cuantitativa de lectinas para conocer con exactitud la cantidad de éstas que permanecen tras el tratamiento térmico. Sin embargo, debido a que el título mostrado por el aislado de frijol negro resulta incluso menor al mostrado en frijoles negros enlatados o deshidratados y a que estudios demuestran que las hemaglutininas (lectinas) se desnaturalizan en la cocción a partir de 15 min de cocimiento a 121 °C (Flores, 2010) sin dejar actividad

residual si el procesamiento térmico se lleva a cabo de manera correcta (Lajolo & Genovese, 2002), existe la posibilidad de considerar el aislado como seguro para su consumo respecto al contenido de lectinas.

8.4.3. Inhibidores de Tripsina

Los resultados de cuantificación de inhibidores de tripsina mostrados en la Tabla 18, muestran datos interesantes para analizar.

Por una parte, la cantidad de inhibidores de tripsina presentes en el frijol crudo usado para este estudio, es similar a lo reportado para frijol negro crudo de otras variedades, lo cual demuestra una consistencia entre valores para un frijol con un color de testa característico.

Por otro lado y de acorde a lo reportado por Bull & Breese (1973), el aplicar un tratamiento térmico al frijol por encima de 77 °C (temperatura de desnaturalización de los inhibidores de tripsina), esperaría una disminución en el contenido de estos factores antinutricionales, lo cual se cumple para el caso del frijol cocido, sin embargo, no sucede lo mismo con este aislado de proteínas de frijol negro.

En general, se puede observar que el aislado de frijol muestra una mayor cantidad de inhibidores de tripsina en comparación con las demás muestras de frijol. Lo anterior puede ser atribuido a diversos factores. En primera instancia, los inhibidores de tripsina son proteínas solubles en agua y este tipo de albúminas que constituyen del 0.2-2 % del total de la proteína soluble de las leguminosas (Savage et al., 2003) fueron concentrados por el proceso natural de aislamiento. Por otro lado, se ha observado que los inhibidores de tripsina del tipo Bowman-Birk, son estables bajo condiciones normales de tratamiento térmico (Damodaran, 2008), por lo que no sería extraño que dado el tratamiento térmico realizado, se pueda encontrar una cantidad considerable de inhibidores en el aislado. Sin embargo, aunque la cantidad de inhibidores de tripsina en el aislado es alta, se necesita realizar un estudio toxicológico más detallado para conocer los posibles efectos del consumo de estos a través del aislado. Aun así, fue posible corroborar que un tratamiento térmico mayor, reduce la cantidad de inhibidores presentes en la muestra, hasta en un 30%

menos. No obstante, debido a que los experimentos de esta Tesis se realizaron con el tratamiento térmico original, la metodología y los resultados del nuevo tratamiento térmico no se presentan en esta parte.

Tabla 18 Determinación de inhibidores de tripsina en diferentes muestras de frijol

Muestra	UIT/g muestra	UIT/ g proteína	Técnica	Referencia
Frijol negro crudo (Var. INIFAP-8025)	11.80	61.01	Kakade modificado por Smith et al. (1980)	Este trabajo
Frijol negro Durango crudo	8.46 a 11.42	NR	Kakade modificado por Smith et al. (1980)	Iniestra et al. (2005)
Frijol negro Sahuatoba crudo	10,67 a 11,81	NR	Kakade modificado por Smith et al. (1980)	Iniestra et al. (2005)
Frijol negro cocido (Var. INIFAP-8025)	6.24	32.40	Kakade modificado por Smith et al. (1980)	Este trabajo
Aislado de proteínas de frijol negro (Var. INIFAP-8025)	25.67	35.82	AACC, 2001	INCMNSZ
	32.77	45.72	Kakade modificado por Smith et al. (1980)	Este trabajo
Aislado de Frijol (Morales de León, et al., 2007)	5.88	NR	AACC, 2001	Morales de León et al. (2007)
NR: No Reportado				

Por otro lado, la comparación entre la materia prima cruda, cocida y en aislado, muestra una diferencia significativa en el nivel de inhibidores de tripsina presentes: el aislado proteínico posee más del quíntuple de la cantidad presente en el frijol negro cocido y casi el triple de la cantidad presente en el frijol crudo. Sin embargo, la cantidad de inhibidores es mostrada como UIT/g muestra, lo cual debe ajustarse para caso del aislado, ya que al concentrarse las proteínas, también los inhibidores de tripsina se concentran.

Por lo anterior, el resultado de la investigación en términos de UIT/g proteína es, para el frijol crudo 61.01, para el frijol cocido 32.40 y para el aislado de proteínas de frijol 45.72, lo cual indica que a nivel proteína, la cantidad de inhibidores de tripsina sí disminuye, pero no en proporciones similares para las tres muestras descritas.

8.4.4. Cuantificación de Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)

Inicialmente, durante las extracciones secuenciales alcalinas y ácidas realizadas en el aislamiento de proteínas de frijol, se evidenciaron los cambios de color característicos de las antocianinas debidos al pH. La extracción de globulinas mostró la solubilización de compuestos fenólicos constituyentes no solo de la testa, sino del grano entero molido de frijol negro (Salinas et al., 2005). La extracción de glutelinas por su parte, mostró la presencia de tonalidades azules intensas al aumentar la cantidad de grupos hidroxilo (formación de base quinoidal), donados por el NaOH adicionado para ajustar el pH la muestra y lograr la solubilización deseada de las proteínas. Este color prevaleció, aunque en menor proporción en la extracción de las albúminas mediante la presencia de tonalidades azul claro, debido a que el pH aún se encontraba alcalino. Finalmente, el acidificar la muestra de las soluciones proteínicas extraídas permitió confirmar de la presencia de antocianinas, debido a que en estas condiciones presentan una coloración rojiza provocada por la formación de la estructura del catión flavilio.

Por lo anterior y para evaluar la presencia de dichas antocianinas en el aislado antes y después del tratamiento térmico, se realizaron los experimentos descritos en la metodología respectiva y se compararon con la literatura. Inicialmente, es de destacarse que los resultados mostrados en la Tabla 19, evidencian que existe una cantidad mayor de antocianinas en el frijol crudo utilizado en el presente estudio (línea INIFAP 8025), en comparación con lo reportado por Salinas et al. (2005) sobre 15 variedades de frijol negro, lo cual como se ha mencionado, puede deberse a las condiciones de siembra y cosecha, y por supuesto, también a la variedad genética del frijol.

Tabla 19 Cuantificación de antocianinas en distintas variedades de frijol crudo

	mg antocianinas totales/g muestra
Frijol negro crudo (línea INIFAP-8025)	86.04 ± 15.04
Frijol negro crudo (Salinas et al., 2005)	37.7 -71.6
Aislado proteínico de frijol negro (60 min tratamiento térmico en autoclave)	42.03 ± 11.23

*Determinación realizada por duplicado.

En cuanto a la cantidad de antocianinas presentes en el aislado de frijol negro, se observa una disminución de aproximadamente el 50 % en su concentración, debido principalmente al tratamiento térmico que simula el proceso de cocción de los frijoles caseros, por el cual se ven afectados estos compuestos.

En comparación con otros alimentos que contienen antocianinas, se puede establecer que el aislado cuenta con una mayor concentración que las fresas, las ciruelas o el vino rojo, los cuales poseen rangos de 19-55 mg/100 g, 2-25 mg/100 g y 16.4-35 mg /100 mL, respectivamente. En contraste, la concentración del aislado es menor si se compara con productos como arándanos, grosellas, moras azules o maíz morado, los cuales contienen 67-140 mg/100 g, 82.5-325.9 mg/100 g, 61.8-299.6 mg/100 g y 1642 mg/100 g, respectivamente (Pascual-Teresa et al., 2010). Aunado a lo anterior, se conoce que una concentración de 0.2-10 mg/mL de extractos de antocianinas, ha logrado inhibir diferentes tipos de cáncer en humanos (Cooke et al., 2005), lo cual al compararse con las cantidades presentes en el aislado, sugiere que puede haber un efecto significativo, sin embargo es algo que debe ser investigado más a profundidad.

Por otro lado, un subproducto del proceso de aislamiento de frijol negro es un líquido de desecho que no fue sometido a tratamiento térmico y que muestra visualmente la presencia de antocianinas residuales (dilucidadas por poseer un color rosa en medio ácido), lo cual pudiera representar una excelente oportunidad para dotar al aislado seco de antocianinas recuperadas propias del frijol.

8.4.5. Perfil proteínico del aislado

Como antecedente a este análisis, Quiñones (2010) realizó diversas pruebas en el aislado de proteínas de frijol original para obtener su perfil proteínico, sin embargo, los resultados no mostraron la separación de las proteínas por peso molecular ni su presencia, lo cual resultaba desconcertante pero atribuible a la baja solubilidad del aislado.

Por el contrario, los resultados obtenidos en este estudio para el perfil proteínico del aislado proteínico de frijol mejorado (Figura 28) y para los extractos crudos de los que se partió (Figura 27), mostraron que las electroforesis realizadas revelaron la presencia de bandas como comprobación de la presencia de proteínas.

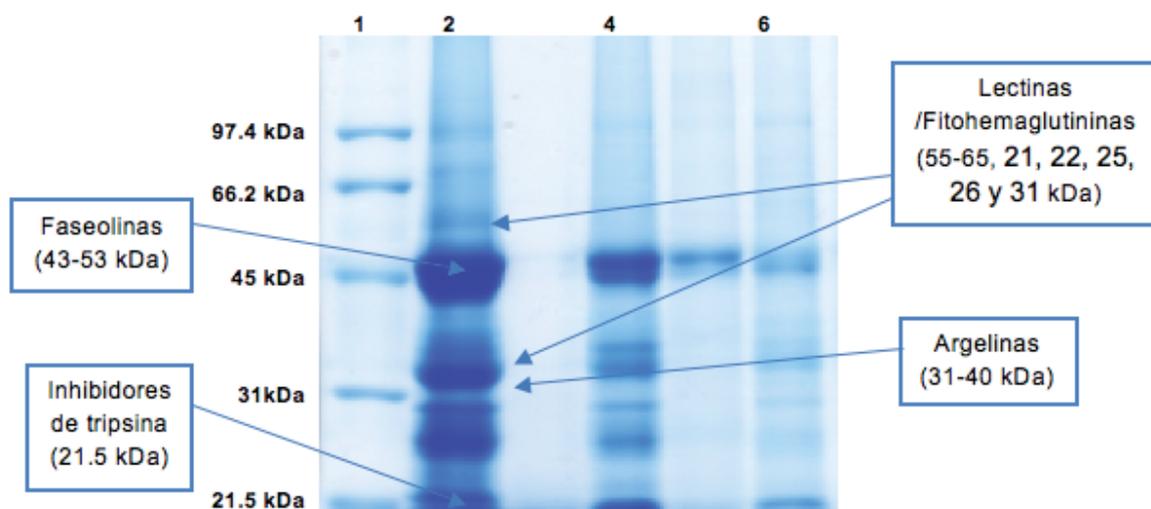


Figura 27. Electroforesis de las proteínas presentes en el frijol crudo. Carril 1: marcador Biorad®. Carril 2: primera extracción de proteínas (globulinas), Carril 4: segunda extracción de proteínas (glutelinas), Carril 6: tercera extracción de proteínas (albúminas).

La presencia de faseolinas en la muestra de frijol (proteínas presentes en mayor proporción y de gran importancia en esta leguminosa), es evidenciada por la presencia de bandas correspondientes a sus subunidades, las cuales se muestran en el rango de 43-53 kDa. Es de distinguirse que, la intensidad y proporción de las bandas es mayor en el carril 2 en este rango debido a que, como lo menciona la literatura, la mayor concentración de faseolinas se encuentra en las globulinas. En las globulinas también se observan, aunque en menor grado, fitohemaglutininas

(55-65 kDa), argelinas (31-40 kDa) e inhibidores de tripsina (21.5 kDa). En cuanto a las fitohemaglutininas, Morales de León et al. (2007) y Rui et al. (2011), muestran en el perfil electroforético de semillas de frijol al grupo de las lectinas con un peso molecular de 21, 22, 25, 26 y 31 kDa. La investigación de esta Tesis, también mostró la presencia de dichas bandas, por lo que se puede confirmar su presencia en el frijol crudo.

Por otro lado, en el aislado (Figura 28), se observa la presencia de las mismas proteínas presentes en los extractos crudos: faseolinas (43-53 kDa), fitohemaglutininas (21, 22, 25, 26, 31 y de 55-65 kDa), argelinas (31-40 kDa) e inhibidores de tripsina residuales (21.5 kDa), por lo que se puede deducir que el efecto del tratamiento térmico sobre el aislado, mantuvo las proteínas de importancia nutricional como las faseolinas, y redujo la presencia de proteínas como lectinas e inhibidores de tripsina.

En cuanto a la presencia de lectinas, en el aislado proteínico de frijol negro únicamente se observa la presencia de las bandas en 21 y 31 kDa, lo cual denota la desnaturalización de subunidades de lectinas restantes y confirma que a pesar de que en la determinación semicuantitativa de lectinas no se obtuvo un título que permitiera realizar cálculos para su cuantificación (ver sección 8.4.2), éstas aún se encuentran presentes. Los inhibidores de tripsina (tipo Kunitz), por su parte, son observados en las bandas de 21.5 y 24 kDa, los cuales, aunque no se aprecian claramente en la imagen, se corrobora su presencia mediante la cuantificación de inhibidores de tripsina (ver sección 8.4.3).

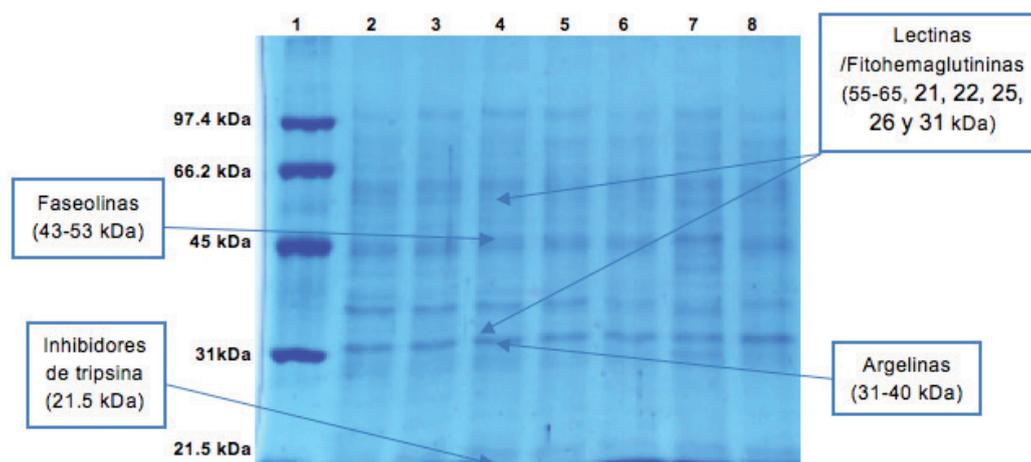


Figura 28. Electroforesis de las proteínas presentes en el aislado de frijol negro. Carril 1: marcador Biorad. Carril 2: pH 2, Carril 3: pH 3, Carril 4: pH 4, Carril 5: pH 5, Carril 6: pH 6, Carril 7: pH 7, Carril 8: pH 8.

Finalmente, se observa que el pH, no modifica sustancialmente el perfil de las proteínas presentes en el aislado.

8.5. EVALUACIÓN FUNCIONAL

Las características sensoriales, frecuentemente resultan de mayor importancia para el consumidor que el valor nutrimental, en consecuencia este último resulta alterado para lograr buenas cualidades organolépticas como textura, sabor, color y apariencia, las que a su vez son resultado de interacciones complejas entre los ingredientes (Damodaran & Paraf, 1997; Damodaran, 2008). A continuación se muestran los resultados de algunas de las propiedades funcionales que jugaron un papel importante en la decisión de utilizar el aislado en formulaciones de alimentos, una vez que se aseguró un buen valor nutrimental y buena calidad proteínica en las complementaciones con cereales.

8.5.1. Solubilidad en función del pH

Los resultados obtenidos de la solubilidad del aislado proteínico de frijol negro se muestran gráficamente en la Figura 29.

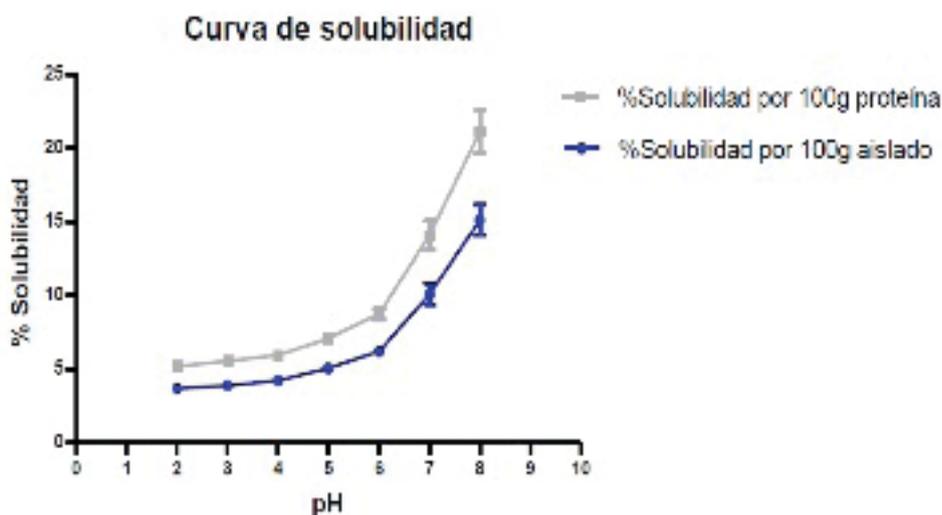


Figura 29. Curva de solubilidad del aislado de proteínas de frijol negro donde el % Solubilidad es interpretado como g de proteína soluble/100 g aislado o g de proteína soluble/100 g proteína total.

La solubilidad del aislado proteínico de frijol muestra una tendencia creciente en función del aumento de pH. El punto máximo de solubilidad se encuentra a pH 8 que fue el extremo del intervalo asignado ($2 \leq \text{pH} \leq 8$) donde se localizan la mayoría de formulaciones de alimentos. La gráfica muestra que el 15.14 % de proteína proveniente del aislado es soluble, es decir, por cada 100 g de aislado concierne a 71.67 g de proteína, 15.14 g son proteína soluble y 56.54 g proteína insoluble.

En cuanto a los cálculos realizados para 100 g de proteína del aislado, se puede establecer que 21.13 g serán proteína soluble, como se observa visualmente en el gráfico. Además, se observa que a pH ácido (al cual se encuentran la mayoría de los alimentos), el porcentaje de solubilidad es menor a 10 (g proteína soluble/100 g aislado), por lo que no se esperaría una aplicación del aislado en producto ácidos líquidos, sino por el contrario, la aplicación tecnológica se podría basar en productos donde el aislado no requiera solubilizarse.

Por otro lado y como un punto interesante de discusión, se conoce que la interacción proteína-proteína en un medio acuoso es acelerada por interacciones hidrófobas y resultan en un decremento de la solubilidad, mientras que las interacciones iónicas promueven las interacciones proteína-agua y resultan en un incremento de solubilidad. De acuerdo a lo descrito anteriormente, la solubilidad de las proteínas es influenciada por la composición de aminoácidos y su peso molecular (Damodaran, 2008).

La Tabla 20 muestra la relación de aminoácidos polares y no polares en el aislado de proteínas totales de frijol, en la que se comprueba lo descrito anteriormente: la proporción de aminoácidos polares es 63.67 %, en contraste con los 36.33 % de aminoácidos no polares, lo cual resulta en una menor solubilidad de las proteínas del aislado de frijol.

Tabla 20 Relación de aminoácidos polares y no polares en el aislado de frijol.

		Aminoácidos polares	Aminoácidos no polares
Aminoácidos indispensables			
Arginina (g)		4.15	
Histidina ^a (g)		1.73	
Isoleucina (g)			3.02
Leucina (g)			6.21
Lisina (g)		4.60	
Metionina (g)			0.74
Fenilalanina (g)			4.60
Treonina (g)		3.42	
Triptófano (g)			0.92
Valina (g)			3.53
		Aminoácidos polares	Aminoácidos no polares
Aminoácidos no indispensables			
Serina (g)		5.06	
Acido Glutámico (g)		10.15	
Glicina (g)		2.87	
Acido Aspártico (g)		9.00	
Alanina (g)			3.14
Tirosina (g)		2.69	
Prolina (g)			3.00
Cistina (g)		0.42	
Total (g)	69.26	44.09	25.16
Total (%)	100	63.67	36.33

a. Indispensables en niños pero no en adultos

8.5.2. Capacidad de Absorción de Agua (CAAg)

Enwere et al. (1998) demostraron que el tratamiento térmico húmedo desnaturaliza las proteínas, principalmente a las albúminas, sin afectar mayormente a las globulinas. Esta desnaturalización incrementa la accesibilidad por parte del agua a la proteína y a los aminoácidos polares, produciéndose un incremento en la capacidad de absorción de agua. En el caso del aislado, el proceso de aislamiento de proteínas de frijol negro que concentró tanto albúminas como globulinas sometidas a tratamiento térmico, dio la pauta para conocer que se esperaba un valor mayor en comparación con la muestra cruda. Por otro lado, la cantidad de carbohidratos y fibra presente tanto en el aislado (en menor proporción) como en la muestra cruda (mayor proporción), contribuyó a la absorción de agua, mediante gelatinización e hinchamiento de almidón y fibra, respectivamente. Así, el resultado obtenido fue el esperado para las muestras analizadas y donde el uso del tratamiento térmico influyó en gran medida en el resultado de esta propiedad funcional (Tabla 21).

Tabla 21 Capacidad de absorción de agua (CAAg)*

	mL agua retenida/ g fuente	mL agua retenida/ g proteína en la fuente
Aislado proteínico de frijol negro	3.37 ± 0.15	4.70 ± 0.21
Frijol negro crudo (harina)	1.7 ± 0.18	2.37 ± 0.25

*Determinación realizada por triplicado

La Tabla 21, muestra que el aislado proteínico de frijol negro, por sí mismo puede retener una cantidad de agua de más de tres veces su peso, es decir, permite triplicar el peso de la mezcla sin que se presente una separación de agua. Esto en comparación con la CAAg del frijol crudo molido (harina), la cual presenta un valor inferior. Esta propiedad obtenida hace que el aislado sea un producto potencial para su posible uso en productos que requieren alta capacidad para absorber agua, entre ellos, productos de panificación empacados debido a que esta propiedad ayuda a reducir la pérdida de humedad (Chandi & Sogi, 2007). Un rango de CAAg de 1.49 a 4.72 es considerado crítico para su uso como ingrediente en alimentos viscosos como sopas o gravies, siendo el ingrediente con un valor más cercano a 4.72 el mejor a utilizar (Aletor et al., 2002).

8.5.3. Humectabilidad

En relación a los parámetros sugeridos por Balmaceda et al. (1984; ver sección 2.4.2.1.2), se evaluó la humectabilidad del aislado de proteína de frijol negro como **buena-excelente**, resultado logrado mediante el humedecimiento inmediato de la muestra al entrar en contacto con el agua y que, tras media hora de reposo, mostró una dispersión-sedimentación que, con posterior agitación exhibió una dispersión total aunque una fracción volvió a sedimentar al detener la agitación. Es decir, el aislado es higroscópico por lo que su manejo deberá ser en condiciones de baja humedad y su envase deberá estar sellado.

8.5.4. Capacidad de absorción de aceite (CAAc)

La capacidad de absorción de aceite (CAAc) muestra que ésta es menor para el aislado proteínico de frijol en comparación con el valor presentado para harina de frijol negro (Tabla 22).

Tabla 22 Capacidad de absorción de aceite (CAAc)*

	mL aceite retenido/g fuente	mL aceite retenido/g proteína en la fuente
Aislado de proteínas de frijol negro	0.53 ± 0.06	0.74 ± 0.08
Frijol negro crudo (harina)	1.5 ± 0.13	2.09 ± 0.18

*Determinación realizada por triplicado

La absorción de lípidos es una propiedad funcional importante para productos cárnicos, embutidos y productos de pastelería debido a la palatabilidad y retención de sabores. En el caso del aislado, al tener una baja absorción de aceite y alta absorción de agua, se potencializa su uso en la formulación de embutidos bajos en grasa, pues el aislado podría sustituir parte de la carne en éstas, y obtener una buena textura al absorber agua y buen sabor al absorber un poco de grasa pero no en exceso, además de contribuir con un cierto valor nutricional y eliminar parte del daño atribuible al consumo de carne.

8.5.5. Propiedades emulsificantes

El contacto entre moléculas de agua y aceite es energéticamente desfavorable (Israelachvili, 1992). Por lo tanto, las formulaciones de alimentos donde converjan estos dos ingredientes deberán tener algún agente que estabilice la emulsión.

8.5.5.1. Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

Los resultados de la actividad emulsificante que presenta el aislado de frijol se muestran en la Tabla 23. El IAE a pH 4 y pH 7 muestra una tendencia a la baja conforme aumenta la concentración de proteína en la solución. Los valores de IAE indican que una cantidad menor de proteína funciona más eficientemente en el recubrimiento de una gota de aceite hasta un cierto punto.

Cantidades mayores de proteína favorecen una mayor formación de emulsión, medida como turbiedad, sin embargo, representa una menor área cubierta si se expresa por gramo de proteína utilizada.

En cuanto a las dos condiciones de pH que se manejaron, se observó claramente que el aislado de proteínas de frijol negro estabilizó un área interfacial mayor a pH 7 que a pH 4, lo cual sugiere que su desempeño como tensoactivo en emulsiones cuyo pH sea neutro o ligeramente alcalino, será mejor que en productos con pH ácido.

Tabla 23 Índice de Actividad Emulsificante (IAE) del aislado de proteínas de frijol negro con una fracción lipídica de 0.25 (aceite de maíz).

	pH 4		pH 7	
	IAE (m ² /g proteína)	D.E.	IAE (m ² /g proteína)	D.E.
Concentración de Proteína (% p/v)				
0.10	13.80	2.67	23.80	2.70
0.50	11.70	0.40	20.57	2.22
1.00	6.74	1.90	8.36	2.53
5.00	4.50	1.40	4.25	0.86

Los resultados explican que aunque la solubilidad es importante para la capacidad de emulsificación, no se requiere que la proteína posea un 100 % de solubilidad y como se mencionó anteriormente, la solubilidad no es un requisito absoluto para tener una buena capacidad emulsificante.

8.5.5.2. Estabilidad de la emulsión (EE)

En cuanto a la estabilidad de la emulsión, la Tabla 24 muestra los resultados de inestabilidad de emulsiones (sinéresis de aceite) tras la aplicación de una fuerza centrífuga.

Tabla 24 Estabilidad de la emulsión del aislado de proteínas de frijol negro con una fracción lipídica de 0.25 (aceite de maíz)

Concentración de Proteína (% p/v)	pH 4		pH 7	
	% Aceite coalescido	D.E.	% Aceite coalescido	D.E.
0.10	30.00	4.71	0.00	0.00
0.50	35.00	7.07	0.00	0.00
1.00	61.67	7.07	0.00	0.00
5.00	78.33	7.07	36.67	4.71

Se observó que la estabilidad de las emulsiones a pH 7 fue prácticamente total, con excepción de la suspensión al 5 % de proteína. El resultado obtenido demostró que se puede utilizar el aislado de proteína de frijol como un agente emulsificante a pH 7, ya que la emulsión del producto sería no solo más eficiente que a pH 4 como lo probó el IAE, sino que además sería estable a niveles más bajos de proteína y por tanto, de aislado. El aislado de frijol puede funcionar como agente emulsificante, y así tiene otro punto a favor para su uso en productos cárnicos, de panificación y posiblemente en la industria de los aderezos.

8.5.6. Propiedades de espumado

Las propiedades de espumado resultan de particular importancia en la implementación de alimentos donde es deseable la formación de burbujas de aire embebidas en la matriz del alimento.

8.5.6.1. Capacidad de Espumado (CE)

La capacidad de espumado (sobrerendimiento) mostrada en la Tabla 25 como la medida del volumen de incremento para diferentes concentraciones de proteína del aislado en suspensión, a pH 4 y pH 7, evidencian una tendencia parecida, al aumentar el volumen conforme aumenta la concentración de proteína en suspensión, y hasta alcanzar un máximo de 50 % y 70.71 % a pH 4 y pH 7 respectivamente, en espumas formadas con suspensiones que contenían 5 % de proteína. Esta tendencia creciente se explica debido a que la concentración de proteína en la interfase está directamente relacionada con la concentración en el seno de la suspensión, dentro de cierto intervalo, después del cual podría observarse una barrera energética, producida una vez que algunas proteínas han sido adsorbidas, lo que ocasiona que para continuar con la adsorción de nuevas moléculas se necesite invertir cierta energía para desocupar un área en la interfase.

Tabla 25 Capacidad de espumado (CE) del aislado de proteínas de frijol negro en suspensión

Concentración de Proteína (% p/v)	pH 4		pH 7	
	Sobrerendimiento (%)	D.E	Sobrerendimiento (%)	D.E
0.10	2.14	1.01	25.71	8.08
0.50	25.00	5.05	46.43	9.09
1.00	28.57	6.06	59.29	7.07
5.00	50.00	10.10	70.71	9.09

También, se observa que el valor de la capacidad de espumado es menor a pH 4 que a pH 7, lo cual denota que por no encontrarse el valor mayor cerca del punto isoeléctrico de las proteínas de frijol (aprox. 4), se pueda establecer que solo la fracción soluble de la proteína esté involucrada en la formación de espuma.

Por otro lado, el porcentaje de poder de espumado (medido como el volumen final entre el volumen inicial) calculado para poder establecer comparaciones, es para el aislado de frijol de 121 % (0.5 % proteína, pH 7), para la ovoalbúmina 40, para la proteína de soya 500 % y para la grenetina 700 %.

8.5.6.2. Estabilidad de la espuma

Por otra parte, los resultados de la estabilidad de la espuma muestran que a pH 4 la estabilidad permanece casi 2 horas desde el punto máximo al punto de espuma cero, observado hasta un porcentaje de proteína de 5 % (Figura 30). En cambio, a pH 7, una cantidad de espuma claramente visible, aun se detectaba después de 10 horas de reposo (Figura 31).

Lo sugerido por esta prueba es indicativo de la buena propiedad espumante que presenta el aislado de proteínas de frijol negro, por lo que el empleo de éste en alimentos donde se requiera la formación de espuma puede ser importante y más aún si el pH de alimento es cercano a la neutralidad.

8.5.7. Resumen de las propiedades funcionales del aislado y comparativa con otros aislados vegetales

Del estudio realizado, se puede establecer el uso del aislado proteínico de frijol negro según las propiedades funcionales que presenta. La Tabla 26 muestra dichas propiedades y el empleo que se le puede otorgar al aislado en formulaciones de alimentos donde la absorción de agua y absorción de aceite son las propiedades más destacadas.

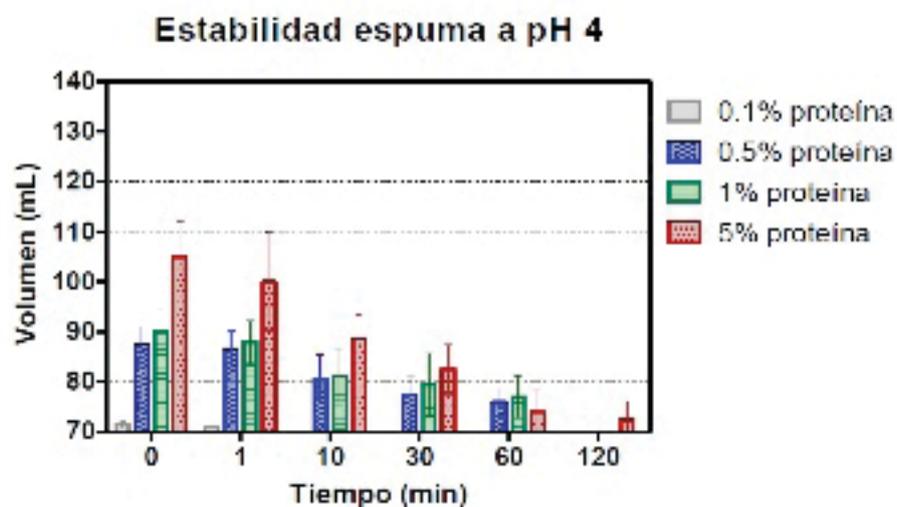


Figura 30. Estabilidad de espuma a pH 4 producida por diferentes concentraciones de proteína en suspensión (% p/v) del aislado de proteínas de frijol negro a tiempos 1, 10, 30, 60 y 120 min y a Temperatura ambiente (21 °C).

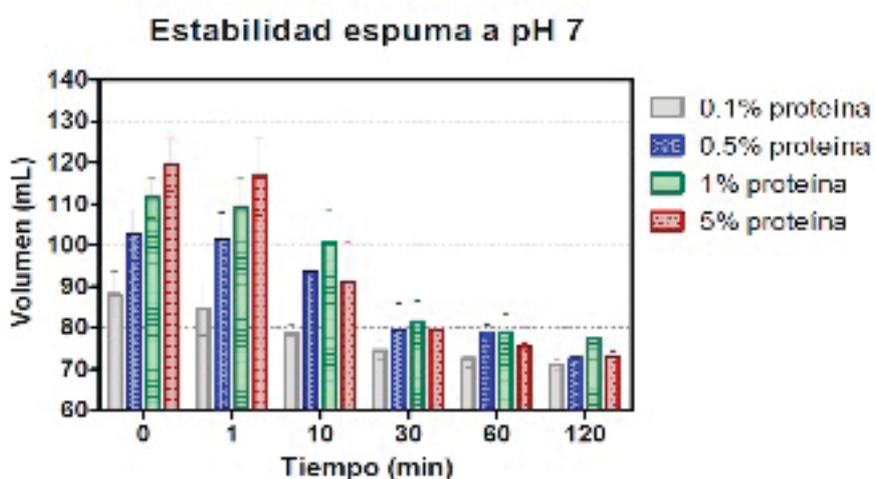


Figura 31. Estabilidad de espuma a pH 7 producida por diferentes concentraciones de proteína en suspensión (% p/v) del aislado de proteínas de frijol negro a tiempos 1, 10, 30, 60 y 120 min y a Temperatura ambiente (21 °C).

Tabla 26 Papel de las proteínas en sistemas alimenticios (potencial del aislado proteínico de frijol negro)

Función	Propiedad Física/Química	Alimento	Posible empleo del aislado de frijol
Solubilidad	Hidrofilicidad, carga neta	Bebidas	Sí, en menor proporción
Viscosidad	Hidrofilicidad, hidrodinámica del tamaño y forma	Sopas, salsas, postres y aderezos	No
Absorción de Agua	Hidrofilicidad	Salchichas, pasteles y panes	Sí
Absorción de aceite	Interacciones hidrofóbicas, atrapamiento	Productos de panadería bajos en grasa	Sí
Emulsificación	Hidrofobicidad, Hidrofilicidad, flexibilidad y rigidez, tamaño, estructura.	Aderezos	Sí, en menor proporción
Espumado	Adsorción interfacial y formación de películas	Merengues, helados y productos batidos	Sí, en menor proporción

Fuente: Basado en Kinsella et al. (1985) con datos del aislado proteínico de frijol.

Asimismo, un resumen de las propiedades funcionales del aislado se muestra en la Tabla 27, donde además, se establece la comparación con dos aislados comerciales: uno de soya y otro de ajonjolí, para demostrar así el posible uso industrial del aislado.

Tabla 27 Resumen de las propiedades funcionales del aislado de proteínas de frijol negro en comparación con aislados proteínicos comerciales

Determinación	Aislado proteínico de frijol negro	Aislado proteínico de ajonjolí	Aislado proteínico de soya	
Humectabilidad	Buena-Excelente	Buena	Mala	
Capacidad de Absorción de Agua (mL H ₂ O/g proteína)	4.70	1.65	6.00	
Capacidad de Absorción de Aceite (mL aceite/g proteína)	0.74	0.75	1.30	
Solubilidad vs pH (g proteína soluble/100 g proteína)				
	pH 2	5.5	81.60	51.81
	pH 4	6.4	42.34	18.21
	pH 6	8.0	9.08	40.37
	pH 8	20.1	20.98	64.56
Índice de Actividad Emulsificante (IAE) a pH 4.0 (m²/g proteína)				
	[Proteína] (%)			
	0.10	13.80	62.12	15.06
	0.50	11.70	11.76	2.85
	1	6.74	6.43	2.36
	5	4.50	5.74	1.52
Índice de Actividad Emulsificante (IAE) a pH 7.0 (m²/g proteína)				
	[Proteína] (%)			
	0.10	23.80	73.27	53.29
	0.50	20.57	37.88	30.92
	1	8.36	29.86	26.54
	5	4.25	10.44	7.88

Estabilidad emulsión (% aceite coalescido) a	pH 4	Aislado proteínico de frijol negro	Aislado proteínico de ajonjolí (SESAPROT) ^a	Aislado proteínico de soya Ardex F ^a
	[Proteína] (%)			
	0.10	30.00	0.00	0.00
	0.50	35.00	0.00	0.00
	1	61.67	0.00	0.00
	5	78.33	11.14	89.14
	pH 7			
	[Proteína] (%)			
	0.10	0.00	89.16	72.78
	0.50	0.00	97.5	100
	1	0.00	100	100
	5	36.67	100	100
	Capacidad de espumado (CE) a pH 4.0 (% Overrun)			
	[Proteína] (%)			
	0.10	2.14	34.00	ND
	0.50	25.00	74.00	ND
	1	28.57	82.00	ND
	5	50.00	68.00	ND
Capacidad de espumado (CE) a pH 7.0 (% Overrun)				
	[Proteína] (%)			
	0.10	25.71	62.00	ND
	0.50	46.43	74.00	ND
	1	59.29	102.00	ND
	5	70.71	68.00	ND
ND: No Disponible, (a) Fuente: López (2001).				

Se puede observar que el aislado proteínico de frijol posee propiedades funcionales que le permite competir con los aislados de soya y ajonjolí. En este sentido, el aislado de frijol es mejor en humectabilidad y similar en términos de absorción de agua, absorción de aceite, índice de actividad emulsificante (a pH 4), estabilidad de la emulsión (a pH 4) y capacidad de espumado a pH 7.

8.6. PROPUESTA DE APLICACIÓN: DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DEL AISLADO PROTEÍNICÓ DE FRIJOL EN FORMULACIONES DE ALIMENTOS

Las características sensoriales resultan de vital importancia para el consumidor, ciertamente por encima de su valor nutrimental. Y este último resulta frecuentemente alterado al lograr buenas cualidades organolépticas como textura, sabor, olor y apariencia, las que a su vez son resultado de interacciones complejas entre los ingredientes. Por esta razón fue necesario conocer las propiedades funcionales de diversos ingredientes o aditivos, en este caso, de aislados proteínicos, de manera que se pudiera establecer en primera instancia su posible uso según las propiedades funcionales que favorecieran su adición a formulaciones de alimentos, y de esta manera obtener una relación nutricia/sensorial de los alimentos desarrollados.

Los resultados obtenidos mostraron la viabilidad del uso del aislado proteínico de frijol negro en formulaciones de alimentos. Una de las principales líneas de uso del aislado se centró en su adición a formulaciones conformadas por un cereal como ingrediente base para así lograr una mejor calidad de proteína (complementación de aminoácidos cereal/leguminosa). Es decir, el aislado presenta un uso potencial en productos de panificación. Otro factor importante en la decisión para la utilización del aislado, radica en la magnitud de una mala nutrición en México ocasionada por la alta disponibilidad en el mercado de alimentos industrializados con un alto contenido en carbohidratos y su frecuente consumo.

Los motivos anteriores, fueron las razones para enfocar el aislado en el desarrollo de dos productos. La primera propuesta es un producto líder en panificación que pudiera otorgar una mayor calidad nutricional y con vista a la industrialización y el segundo, un producto de maíz dirigido al mercado más consciente del valor

nutrimental de los alimentos horneados y no fritos. Así, se optó por la elaboración de dos alimentos: panquecitos de chocolate y galletas de maíz, de los cuales tanto los ingredientes usados en las formulaciones como sus proporciones serán omitidos debido a conflicto de intereses.

8.6.1. Panquecitos de Chocolate

La formulación de panquecitos elegida fue tomada y adecuada de un recetario casero que permitiera contar con un producto visualmente atractivo y con una buena textura, sabor y olor. Lo importante de realizar un prototipo de este estilo fue el dilucidar las aplicaciones de un producto proteínico para lograr una calidad de proteína adecuada y al mismo tiempo elevar el contenido de ésta, en productos cuyo componente principal son los carbohidratos. Además, el reto se basaría en que el producto no debe representar un cambio drástico en la evaluación sensorial del producto final en comparación con sus competidores. Para conocer el equilibrio proteínico correcto del producto, el cálculo de la Calificación Química teórica (CQt) de diferentes proporciones de aislado integrado a la formulación original fue primordial (Figura 32).

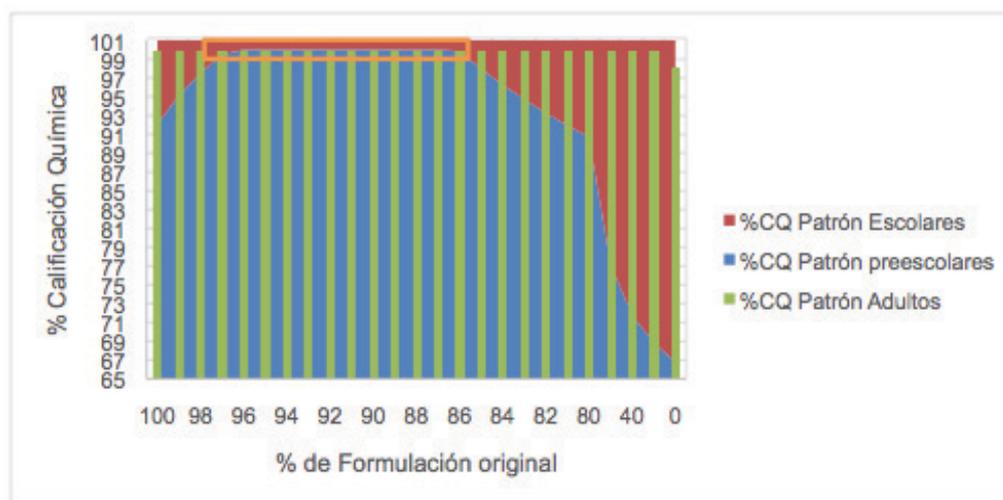


Figura 32. Establecimiento del porcentaje de formulación original que debe ser mezclado con el aislado para lograr la mejor Calificación Química teórica en un panquecito (Patrones FAO/WHO/UN, 1985).

La gráfica obtenida muestra que para lograr una CQt de 100, es necesario mezclar un mínimo de 4 g de aislado con 96 g de formulación original y un máximo de 14 g de aislado con 86 g de formulación original. Así, y para efectos prácticos, se decidió implementar el aislado en los panquecitos en una proporción 8 % aislado y 92 % formulación original.

8.6.2. Galletas de maíz

Para la formulación de galletas, se utilizó maíz nixtamalizado recién molido con el que se pudiera formar una masa y en la que el aislado se pudiera integrar para posteriormente moldear las galletas y someterlas a un horneado ligero. Lo importante de realizar un prototipo de este estilo, fue el mostrar físicamente los beneficios de la complementariedad de proteínas (cereal-leguminosa) tomando como base dos ingredientes de la dieta tradicional mexicana que permitieran revalorar la tradición mexicana en la industria alimentaria.

Así, para conocer el equilibrio proteínico correcto de la galleta, se elaboró una gráfica similar a la de los panquecitos como se muestra en la Figura 33.

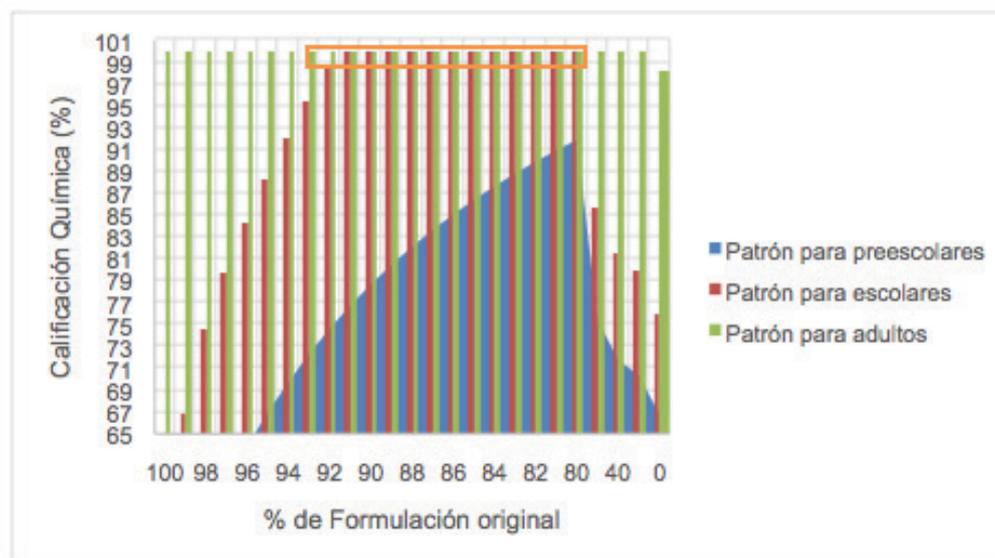


Figura 33. Establecimiento del porcentaje de formulación original que debe ser mezclado con el aislado para lograr la mejor Calificación Química teórica en una galleta de maíz (Patrones FAO/WHO/UN, 1985).

Los resultados muestran que para lograr una CQt de 100, es necesario mezclar un mínimo de 8 g de aislado con 92 g de formulación original, y un máximo de 20 g de aislado con 80 g de formulación original, por lo que para efectos prácticos, se decidió implementar el aislado en las galletas de maíz en una proporción 8 % aislado y 92 % formulación original.

8.6.3. Evaluación sensorial de los prototipos

La evaluación sensorial de los prototipos fue la prueba clave para conocer el impacto real del aislado proteínico de frijol aplicado a alimentos. En general, los consumidores que evaluaron la muestra mostraron cooperación y sinceridad al contestar el cuestionario y evaluar los prototipos por lo que las respuestas del cuestionario fueron tratadas con objetividad.

Como estadística general, de los 100 consumidores que evaluaron las muestras, 58 % correspondieron al sexo femenino y 42 % al sexo masculino. El rango de edades fue de 18 a 54 años, con una media de 22.7 años y una moda de 22 años. El IMC de los encuestados mostró que el 3 % de la población padece algún grado de desnutrición, el 67 % se encuentra dentro del rango considerado normal, 25 % presenta sobrepeso, 4 % tiene obesidad grado I y 1 % padece obesidad grado III. Los hábitos alimentarios de los consumidores enfocados en el estudio realizado, revelaron que del 100 % de los consumidores, el 47 % consume panquecitos, el 88 % consume galletas y el 83 % consume frijoles.

En cuanto a los panquecitos, se observó que aunque el porcentaje de la población encuestada que los consume no es tan alto como se esperaba, posee un mercado cautivo debido a que el 2 % los demanda una vez a la semana, el 28 % los consume tres veces por semana y un 66 % los consume más de tres veces por semana. Igual de sorprendente, resultó el conocer que del 53 % de las personas encuestadas que no consume panquecitos, al 9 % le gustan extremadamente, al 30 % le gustan mucho, al 32 % le gustan, al 20 % le gustan poco y únicamente al 4 % no le gustan, lo cual nos da indicios para pensar que hay un mercado que aún no se ha explotado. Por su parte, las galletas se encuentran bien posicionadas en el agrado del consumidor: al 7 % le gustan extremadamente, al 52 % le gustan mucho, al 33 % le

gustan y al 6 % le gustan poco. También se observó que el 15 % indicó que consume galletas una vez a la semana, el 71 % tres veces por semana y el 14 % más de tres veces por semana. Curiosamente, del porcentaje de personas que no consumen galletas pero sí le gusta, el 42 % padece sobrepeso u obesidad.

El frijol, por otro lado, reportó una demanda considerable por parte de los consumidores dentro de la cual se observó una preferencia del 51 % para el caso del frijol bayo, 40 % para el frijol negro, 7 % para frijol peruano y 2 % para otro tipo de frijol. Sin embargo, aunque su consumo es alto, no lo es tanto el gusto por éste: al 4 % le gusta extremadamente, al 24 % le gusta mucho, al 51 % le gusta, al 11 % le gustan poco, al 5 % no le gusta ni le disgusta, y finalmente, al 5 % le disgusta. En cuanto a su frecuencia de consumo, el 4 % reporta consumirlo una vez a la semana, el 70 % tres veces por semana y el 25 % más de tres veces por semana.

Tabla 28 Escala de 9 puntos de nivel de agrado

Escala	Descripción
1	Me desagrada extremadamente
2	Me desagrada mucho
3	Me desagrada
4	Me desagrada poco
5	Ni me gusta ni me disgusta
6	Me gusta poco
7	Me gusta
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente

En otro contexto, los prototipos evaluados de acorde a lo descrito en la sección 7.2.7.3, muestran que la utilización de una escala de 9 puntos para conocer el agrado del producto mostró ser una gran guía para este tipo de pruebas (Tabla 28).

- **Panquecitos de chocolate**

Las pruebas de nivel de agrado para las muestras de panquecitos de chocolate demostraron el potencial del panquecito adicionado con aislado en comparación con sus similares y de acorde a los atributos evaluados (Figura 34). En primer lugar, la apariencia mostró diferencias significativas entre los panquecitos elaborados y el comercial, y con una calificación de 6.12 (*me gusta poco-me gusta*), demostró ser un punto a corregir que, aunque solo fue un nivel menor, habla de la primera apreciación hacia el producto, en la que el panquecito comercial ha ganado terreno mediante una formulación bien estandarizada y aceptada. El olor, por su parte, no mostró diferencias significativas entre muestras y se colocó en el rango *me gusta poco-me gusta*; se apreciaron notas a chocolate, vainilla, harina, huevo y levadura y ninguna persona apreció olor a frijol. La textura, mostró diferencias significativas entre el panquecito con aislado y las otras dos formulaciones, lo cual evidenció que el aislado puede percibirse al ser comparado con otras muestras, sobre todo por su baja absorción de aceite, lo que provocó que dicho panquecito no contara con la sensación grasa típica de los productos. En el mismo contexto, los mejores atributos evaluados, sabor y olor, no presentaron diferencias significativas entre las muestras y con una calificación “*me gusta poco-me gusta*” contaron con una buena aceptación entre los consumidores y no consumidores de panquecitos, quienes recalcaron además, que el panquecito con aislado proteínico de frijol negro presentaba un sabor más intenso a chocolate.

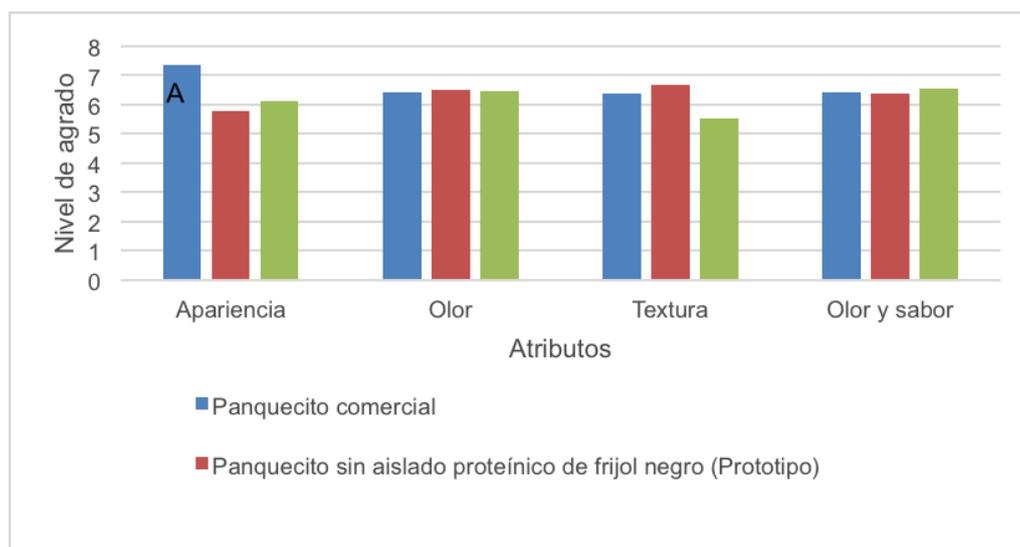


Figura 34. Evaluación sensorial de panquecitos de chocolate (con y sin aislado proteínico de frijol negro) en comparación con un panquecito comercial. Las diferencias en las letras mencionan la existencia de diferencias significativas (Análisis de Varianza de una vía con un nivel de significancia de 95 %).

La evaluación general del panquecito, lo sitúa como un producto agradable para el consumidor con un potencial para ser comercializado en el mercado de productos horneados industrializados, en el que el 90 % de los encuestados lo compraría y por el cual estaría dispuestos a pagar de \$8.00 a \$10.00 en promedio, para un panquecito de 50 g (Figura 35), precio que resulta sensato en un mercado con alta competencia y en la que una empresa controla el mercado mayoritario.



Figura 35. Panquecito de chocolate con aislado proteínico de frijol negro.

- **Galletas de maíz**

Para las galletas de maíz, las pruebas de nivel de agrado mostraron que es necesario modificar la formulación y definir si debe ser dulce o salada (Figura 36). Para comenzar, la apariencia mostró diferencias significativas entre las galletas de maíz con aislado y las galletas sin aislado/comerciales, lo cual era evidente y aunque el prototipo con aislado tuvo una calificación de 5.01 (*ni me gusta ni me disgusta*), el 12 % de los consumidores indicó que el producto les gustó mucho. El olor, por su parte, no mostró diferencias significativas entre muestras y se colocó en el rango *ni me gusta ni me gusta*; se apreciaron notas a maíz, frijol y un aroma a tostado. La textura, tampoco mostró diferencias significativas entre las muestras, sin embargo, los encuestados percibieron que era necesario que la galleta contara con un “crunch” mayor en el caso de galletas saladas o un poco más suaves en el caso de galletas dulces. En el caso del olor y sabor, estos no presentaron diferencias significativas entre las muestras y con una calificación *ni me gusta ni me disgusta* tuvo una aceptación media entre los consumidores y no consumidores de galletas.

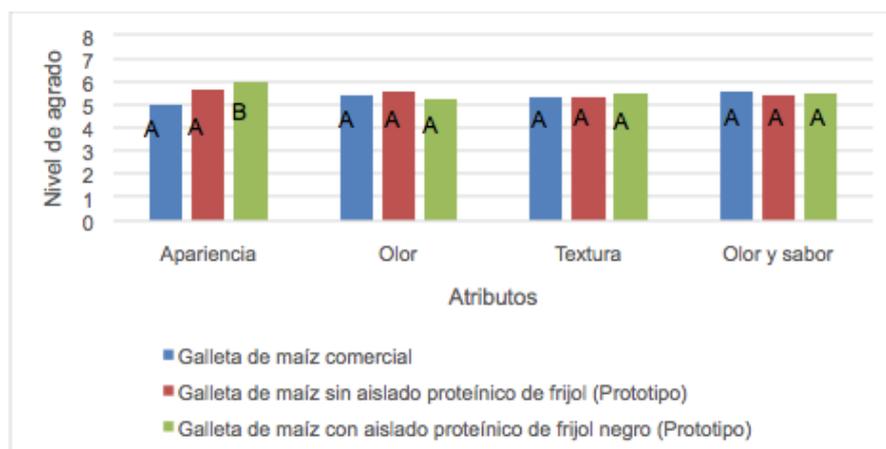


Figura 36. Evaluación sensorial de galletas de maíz (con y sin aislado proteínico de frijol negro) en comparación con galletas de maíz comerciales. Las diferencias en las letras mencionan la existencia de diferencias significativas (Análisis de Varianza de una vía con un nivel de significancia de 95 %).

La evaluación general del galleta, la coloca, a pesar de sus inconvenientes, como un producto agradable para el consumidor con un potencial para ser comercializado

en el mercado de productos horneados industrializados, en el que el 83 % de los encuestados lo compraría y por el cual estaría dispuestos a pagar un promedio de \$6.00 por un paquete de 3 galletas (Figura 37), precio que resulta sensato en un mercado con alta competencia y en la que una empresa controla el mercado mayoritario.



Figura 37. Prototipos de galletas de maíz con y sin aislado proteínico de frijol negro.

Finalmente, la comparación entre los prototipos elaborados y los productos comerciales similares, nos da la pauta para conocer cómo ve el consumidor a dichos productos más allá de la marca y nos ayuda además, a saber en qué se puede mejorar.

9. Conclusiones

Se logró la obtención de un aislado de proteínas de frijol negro en Planta Piloto. Se realizaron mejoras al proceso de aislamiento (en comparación con el original), las cuales permitieron obtener un producto en polvo color café (PANTONE 4735C) con una alta concentración de proteína (72 % de pureza), cantidades moderadas de carbohidratos (18 %) y una baja cantidad de lípidos (<5 %). Por esta razón y como especificación de identidad internacional, el aislado puede ser llamado *Producto proteínico de frijol negro en polvo*, según las declaraciones descritas en CODEX STAN 174-1989.

En cuanto a las proteínas recuperadas del frijol negro, se observó una concentración hasta 4 veces mayor en el aislado (en comparación con la semilla de frijol), siendo las faseolinas, las principales proteínas recuperadas y las de mayor importancia nutrimental en el frijol. En este sentido, el aminograma del frijol demostró que éste cuenta con todos los aminoácidos esenciales, aunque con una baja concentración de aminoácidos azufrados y una alta concentración de lisina en comparación con el patrón ideal dado por la FAO, lo cual lo dota de una ventaja competitiva.

Por otra parte, los componentes bioactivos presentes en el frijol negro registraron afectaciones debidas al proceso térmico al que fue sometido el aislado (para simular el proceso de cocción de los frijoles), que resultan benéficas. Las antocianinas, aunque se redujeron en concentración, su proporción final obtenida fue muy similar a la reportada para otras variedades crudas de frijol con testa negra. Por su parte, las lectinas mostraron una disminución en su concentración a niveles por debajo de frijoles industrializados (comerciales) por lo que su nivel final como factor tóxico es aceptable. El tratamiento térmico también logró una disminución importante en los niveles de inhibidores de tripsina.

La evaluación funcional por su parte, demostró que la mejora en el secado fue determinante para obtener mejores propiedades no solo físicas, sino también funcionales. En este caso, el aislado mostró un gran potencial para su uso en formulaciones de alimentos al contar con una alta capacidad para absorber agua y una baja capacidad para absorber aceite, además de una solubilidad media y buenas capacidades espumantes y emulsificantes. Así, el perfil potencial de uso del

aislado con base en sus propiedades funcionales puede ser principalmente (más no de forma limitativa) en: productos de panificación (pasteles, panes, entre otros), productos cárnicos (salchichas y otros embutidos) y bebidas (en polvo para preparar licuados altos en proteína).

Se logró conjuntar la parte nutrimental con la parte funcional de una proteína para crear productos con potencial para comercialización industrial dirigidos en gran medida a diferentes nichos de mercado o con necesidades nutrimentales específicas. En este sentido, los productos elegidos como prototipos: panquecito de chocolate y galleta de maíz, lograron que se evidenciara la inclusión de la mezcla tradicional cereal / leguminosa mediante una versión moderna que puede revalorar el consumo de frijol como parte de la dieta tradicional mexicana, en una población con una mala nutrición. La inclusión del aislado a las formulaciones originales permitió prácticamente duplicar su contenido total de proteína, además de mejorar su calidad (la Calificación Química teórica, prácticamente fue de 100). Además, dichos productos fueron del gusto del consumidor, y se observó que el uso del aislado pudiera intensificar el sabor a chocolate en formulaciones que lo tengan como ingrediente.

Finalmente, el aislamiento de la proteína de frijol permitió desarrollar un “módulo proteínico” que podría brindar un nuevo uso del frijol en la cadena agroalimentaria, con ventajas potenciales en la nutrición y salud del consumidor.

10. Recomendaciones

La posibilidad de obtener un aislado proteínico vegetal con la calidad del frijol, mostró un gran potencial nutrimental y funcional. La investigación previa además, perfiló al aislado como un agente potencialmente reductor de la lipogénesis, Sin embargo, aún queda mucho por investigar en este atractivo producto.

El primer punto que sería importante de analizar más a fondo es el referente al proceso de aislamiento. Primeramente, resulta imprescindible mejorar aún más el proceso de aislamiento para lograr una mayor extracción de proteína y por lo tanto un mejor rendimiento. No obstante, también es necesario aprovechar de forma integral el proceso de fraccionamiento del frijol, es decir, hay que caracterizar y valorar no solo el aislado, sino los subproductos obtenidos, de forma que no sean considerados desechos. Estos productos, lejos de ser indeseables, son una fuente importante de nutrimentos (subproducto sólido) y compuestos bioactivos (subproducto líquido). En el primer caso, el subproducto sólido contiene una alta concentración de carbohidratos como almidón y fibra, que pudieran ser recuperados posteriormente. En el segundo caso, el subproducto líquido contiene, entre otros compuestos, antocianinas, que al no ser sometidas a tratamiento térmico, pudieran ser una fuente importante de antioxidantes o colorantes naturales.

El segundo punto, es profundizar en el conocimiento del aislado mediante la realización de análisis de compuestos nutrimentales como vitaminas, minerales y fibra dietética, particularmente fibra soluble y almidón resistente (la fibra mostrada en los AQP de la presente Tesis es fibra cruda); así como compuestos no nutrimentales, entre ellos, ácido fítico (posee potencial para la reducción de riesgo de cáncer), taninos (de sabor amargo, inhiben absorción de hierro, aunque son considerados antioxidantes y anticancerígenos), oligosacáridos (productores de flatulencia, el proceso de aislamiento los elimina disueltos en el subproducto líquido) e inhibidores de tripsina residuales (cuyo consumo pudiera jugar un papel en la reducción de linfomas o como marcadores de tumores). También es importante conocer la digestibilidad verdadera del aislado (para poder calcular de forma correcta el PDCAAS).

El tercer punto, es la realización de pruebas con consumidores. Inicialmente, se podrían realizar pruebas de balance de nitrógeno por el consumo de este producto

como única fuente de proteína, o bien en complementación con alguna proteína de cereal para alcanzar un buen balance de aminoácidos. Esta investigación podría acompañarse de biometrías hemáticas que permitan conocer el estado del individuo por el consumo de proteína de frijol en comparación con una dieta estándar. Y algo que sin duda es posible y necesario realizar, es conocer el índice glicémico del aislado, asociado a otros productos donde pueda ser implementado y donde se puedan observar claramente los beneficios de su aplicación en formulaciones de alimentos.

En otro orden de ideas, es interesante la posibilidad de recuperar el uso de proteínas de origen vegetal como fuente importante en la nutrición, lo que permite tener una buena alternativa al consumo de carne, que puede tener problemas de salud asociados, como la gota, un aumento del colesterol y la hipertensión, y cuya producción extensiva es poco amigable con el ambiente.

Una vez obtenidos los resultados finales de la investigación que actualmente se lleva a cabo en el INCMNSZ en el grupo de los Doctores Tovar y Torres, podría proponerse su consumo entre personas con sobrepeso (respecto del potencial de la proteína de frijol negro para reducir lipogénesis), en el caso de adultos mayores (es una proteína en polvo que puede ser útil para la preparación de alimentos de fácil deglución), para personas alérgicas (proteína de frijol no está considerada como alergénica), para deportistas (es polvo de alta concentración proteínica), para vegetarianos (proteína vegetal de calidad), y también para el desarrollo de alimentos novedosos (producto saludable e inocuo disponible para alimentos procesados de fácil consumo), entre otros.

Finalmente, y sin dejar atrás el aspecto económico, es necesario realizar una evaluación costo-beneficio de la producción-implementación del aislado. En este punto se pudiera evaluar el uso de frijol quebrado o defectuoso (NMX-FF-038-SCFI-2013), o bien probar el uso de frijol endurecido (viejo o mal almacenado), que de otra forma pudieran ser considerados de desecho. Esto permitirá evaluar la factibilidad de producirlo a nivel industrial y llevarlo al siguiente nivel en el desarrollo de nuevos productos, donde puede ser una alternativa a otros aislados proteínicos, sobre todo los de soya, actualmente líderes en el mercado y exitosos debido en gran parte a la investigación apoyada por la Asociación Americana de la Soya (ASA por sus siglas en inglés), pero que tienen problemas importantes de alergenicidad.

*El hombre es el alimento del hombre.
El saber no es distinto del soñar, el soñar
del hacer (Un poeta)"*

Octavio Paz (1914-1998). Poeta, escritor, ensayista y diplomático mexicano

11. Bibliografía

AACC (American Association of Cereal Chemists, 2001). 10ª Ed. pp. 22-40.

Acosta, G.; Muruaga, J.; Cárdenas, F. & Khairallah, M. (1996). Estrategias para la utilización de germoplasma de *Phaseolus* en el mejoramiento genético. *Ciencia* 47: 149-160.

Aguilera, O.; Reza, V.; Chew, M. & Meza, V. (2011). Propiedades Funcionales de las Antocianinas. *Revista Biotecnía*, Universidad de Sonora, 13(2): 16-22.

Aletor, O.; Oshodi, A. & Ipinmoroti, K. (2002). Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chem.*, 78: 63-68.

AMA (The American Marketing Association, 2007). Marketing Power Inc. Consultada el 14 de diciembre de 2013. Disponible en: <http://www.marketingpower.com>

Anderson, J. & Alien, J. (1994). Nutrition of macrominerals and trace elements. *Functional Foods Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*, Golberg, L, Chapman & Hall, London, UK, pp. 323-354.

Anzaldúa-Morales A. (1994). Las pruebas sensoriales. En: Anzaldúa-Morales (Ed.), *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica*, Acribia, pp. 67-121.

AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15a. ed., Virginia, pp. 342, 1095-1096, 1105-1106.

Arcand, J. (2001). Undernourishment and economic growth. En: *FAO, The State of Food and Agriculture 2001*, Rome, Italy.

ASERCA (2007). *Estudio de maíz blanco y frijol seco. Borrador para discusión*, Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria, México.

Aswathi A. (1993). *Plant Foods for Human Nutrition*. 43: 225-232.

Ávila, A. & Shamah, T. (2005). Diagnóstico de la magnitud de la desnutrición infantil en México. En: Zuñiga-Herrera, E., (Coord.). México, ante los desafíos de desarrollo del milenio. CONAPO, pp. 99-125.

Aykroyd, W. (1977). Las leguminosas en la nutrición humana. Departamento de Nutrición Humana, Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres, pp.1-69

Aykroyd & Doughty (1982). Legumes in Human Nutrition. FAO, Food and Nutrition paper, Roma, Italy, 20: 1-42, 57-85.

Badui, S. (2013). Nutraceuticos, fitoquímicos y alimentos funcionales. En: Badui, S. (Ed.), Química de los alimentos, 5ta. ed., Pearson Educación, México, pp. 700-715.

Balmaceda, E.; Kim, M.; Franzen, X.; Mardones, B. & Lugay, J. (1984). Protein functionality methodology-standard tests. En: Regenstein, J. & Regenstein, M. (Eds.), Food Protein Chemistry, Academic Press, NY, pp. 278-291.

Baojun, X.; Sam, K. & Chang, C. (2009). Total Phenolic, Phenolic Acid, Anthocyanin, Flavan-3-ol, and Flavonol Profiles and Antioxidants Properties of Pinto and Black

Beans (*Phaseolus vulgaris L.*) as Affected by Thermal Processing. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 4754-4764.

Bardocz, S.; Grant, G.; Pusztai, A.; Franklin, M. & Carvalho, A. (1996). The effect of phytohaemagglutinin at different dietary concentration on the growth, body, composition and plasma insulin of the rat. *Br. J. Nutr.*, 76: 613:626.

Beattie, R. & Champion, M. (2012). Essential revision notes in pediatrics for the MRCPCH. Knutsford, pp. 454.

Belitz, H.; Grosch, W. & Schieberle, S. (2005). Food Chemistry, 3ra. ed., Springer-Verlag, pp- 8-91.

Berk, Z. (1992). Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. FAO Agricultural Services Bulletin, 97 (6).

Birk, Y. (1968). Chemistry and nutritional significance of proteinase inhibitors from plant sources. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 146: 388-399.

Boyd, W. & Shapleigh, E. (1954). *Blood*, 9: 1195-1198.

Bourges, H. (1987). Las leguminosas en la alimentación. Parte II. Cuadernos de Nutrición. Publicación del Instituto Nacional de la Nutrición (ahora Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán), CONASUPO y sus empresas industriales, 10:22-30.

Bourges, H. (2000). Modernización de la dieta mexicana. En Higuera, I. & Larqué, A. (Organizadores). II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Memoria. Hermosillo, Sonora, 14 a 16 de octubre de 1999. México: Academia Mexicana de Ciencias, Consejo Consultivo de Ciencias, SEP-CONACYT, CICY y CIAD. pp. 3-21.

Bourges, H. (2001). La alimentación y la nutrición en México. *Comercio Exterior*, pp. 987-904.

Bressani, R. (1982). Duración y consecuencias del endurecimiento del frijol. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32: 308-332.

Bull, H. & Breese, K. (1973). Thermal stability of proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 158: 681-686.

Cabrera, A. (2011). Evaluación de los cambios nutricionales y no nutricionales de frijol (*Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus coccineus*) por efecto de la cocción. Tesis de Licenciatura. Ingeniería Bioquímica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Camacho, A.; Giles, M.; Ortigón, A.; Palao, M.; Serrano, B. y Velázquez, O. (2009). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.

Campos, F.; Logullo, A.; Kiss, D.; Waitzberg, D.; Habr-Gama, A. & Gama, J. (2005). Diet and colorectal cancer: current evidence for etiology and prevention. *Nutrición hospitalaria: Órgano oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parental y Enteral*.

Castellanos, Z.; Guzmán, H.; Jiménez, M.; Mejía, C.; Muñoz, R.; Acosta, J.; et al. (1997). Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México, *Arch. Latin. Nutr.* 47(2): 137-163.

Champ, M. (2002). Grain legumes and health. A workshop in 2001. *Grain Legum.* 35:13-14.

Chandi, K. & Sogi, D. (2007). Functional properties of rice bran protein concentrates. *J. Food Eng.*, 79: 592-597.

Cheftel, J.; Cuq, J. & Lorient, D. (1989). Proteínas alimentarias. Acribia, Zaragoza, España, pp. 346.

Cho, M.; Shen, R. & Mooshegian, R. (2008). Soy Protein Isolate. United States Patent no. 7,332,192.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical; 1994). Problemas de producción del frijol en los trópicos. 2da. ed., Cali, Colombia, pp.201-805.

Clemente, A.; MacKenzie D.; Johnson, I. & Domoney, C. (2004). Investigation of legume seed protease inhibitors as potential anticarcinogenic proteins. En: Muzquiz M.; Hill, G.; Cuadrado, C.; Pedrosa, M. & Burbano, C. (Eds.). Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Oilseeds: Proceeding of the 4th International Workshop on Antinutritional Factors in Legume Seeds and Oilseeds, Wageningen Academic Publishers, Netherlands, pp. 137-141.

CMMS (Comisión Mexicana sobre Macroeconomía y Salud, 2006). Macroeconomía y salud. Invertir en salud para el desarrollo económico. México, 245 p.

CODEX STAN 174-1989. Norma general del CODEX para los Productos Proteínicos Vegetales (PPV). Codex alimentarius, FAO/WHO, 1:102-105.

CODEX STAN 175-1989. Norma del CODEX para productos proteínicos de soja. Codex alimentarius, FAO/WHO, 1:98-101.

Cogan, U.; Yaron, A.; Berk, Z. & Mizrahi, S. (1967). Isolation of soybean protein: effect of processing conditions on yield and purity. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 44: 321.

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2013a). Banco de imágenes. Consultado el 4 de febrero de 2014. Disponible en: <http://bdi.conabio.gob.mx/fotoweb/inicio.fwx>

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2013b). Frijol. Consultada el 4 de febrero de 2014. Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/alimentacion/frijol.html>

CONAPO (Consejo Nacional de Población; 2014). Proyecciones de la población de México 2010-2050. Secretaria de Gobernación, México. Consultada el 2 de marzo de 2014. Disponible en: <http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Proyecciones>

Cooke, D.; Steward, W.; Gescher, A. & Marczyklo, T. (2005). Anthocyanins from fruits and vegetables. Does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Eur. J. Cancer*, 41: 1931-1940.

Cooper, B. (1966). Nutrición y Dieta. Interamericana, 14ed., México, p. 3.

Coronado, M.; Vega y León, S; Gutiérrez, R.; García, B. & Díaz, G. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *REB*, 25(3): 72-79.

Crosby, A. (1997). La fusión de dos comidas. En: Long, J. (Coord.). Conquista y comida: consecuencias del encuentro de dos mundos. UNAM, pp. 131-144.

Curciarello, R. (2010). Análisis de la alergenicidad de componentes proteicos de soja que presentan reactividad cruzada con caseínas bovinas. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata.

Damodaran, S. (1994). Structure-function relationship of food proteins. En: Hettiarachchy, H. & Ziegler, G. (Eds.), Protein functionality in food systems. IFT Basic Symposium Series: USA. pp. 1-38.

Damodaran, S., (2008). Amino Acids, Peptids, and Proteins, En: Damodaran, S, Parkin, K. & Fennema, O., (Eds.), Fennema's Food Chemistry, CRC Press, 4ed., USA, pp. 219-329.

Damodaran, S. & Paraf, A. (1997). Food proteins and their applications. Marcel Dekker, pp. 321-429.

Dargon-Scaviner, C., Gueguen, J., Lefebvre, J. (1987), Emulsifying properties of pea globulins as related to their adsorption behaviors. J. Food Sci. 52(2): 335.

Debouck, D. (1986). Primary diversification of *Phaseolus* in the Americans: Three centres. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 67: 2-8.

Debouck, D. & Hidalgo, R. (1985). Morfología de la planta de frijol común. En: López, M.; Fernández, F. & Sochoonhoven, A. (Comp.). Frijol: Investigación y Producción. PNUD/CIAT, Cali, Colombia, pp. 7-41.

Delgado-Salinas, A.; Bibler, M. & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, 31(4): 779-791.

Deshpande, U. & Deshpande, S. (2011). Legumes. En: Salunke & Deshpande (Eds.). Foods of Plant Origin: Production, Technology and Human Nutrition. England, pp. 137-300.

Dickinson, E. (1992). Introduction to Food Colloids, Oxford University Press.
ENIGH-INEGI (Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares, 2012). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Resultados 2013.

ENSANUT 2006. Ver Olaíz-Fernández et al. (2006).

ENSANUT 2012. Ver Gutiérrez et al. (2012).

Enwere, N.; McWalters, K. & Phillips, R. (1998). Effect of processing on some properties of frijol seed, protein, starch, flour and akara. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 49: 365-373.

FAO (1970). Amino acid content of foods. *Nutr. Stud.*, No. 24.

FAO/WHO/UN (1985) Energy and Protein Requirements Report of a Joint FAO/WHO/UN Expert Consultation. World Health Organization Technical Report Series 724. WHO, Geneva, Switzerland, pp. 121-123.

FAO (1996). Ecología en Enseñanza Rural. Nociones ambientales básicas para profesores rurales y extensionistas. Estudio FAO, Montes 131.

FAO (2009). Base de datos. Balance food supply. Consultada el 12 de febrero de 2014. Disponible en:

<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/FB/FB/E>

FAO (2010). Base de datos. Seguridad alimentaria. Consultada el 10 de febrero de 2014. Disponible en:

(<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/ak614s/ak614s00.pdf>)

FAO (2012). Tabla composición de alimentos. Frijol negro (Código T105). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Consultada el 20 de diciembre de 2013. Disponible en: <http://www.rlc.fao.org/en/about-fao/what-we-do/statistics/composicionalimentos/busqueda/?clave=T105>

FAO (2013a). Base de datos. Comercio. Exportaciones e Importaciones. País por Producto. Consultada el 15 de febrero de 2014. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>

FAO (2013b). Base de datos. Producción. Cultivos. Consultada el 11 de febrero de 2014. Disponible en:

<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>

FAO (2013c). Base de datos. Suministro alimentario. Cultivos Primarios Equivalentes. Consultada el 12 de febrero de 2013. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/609/default.aspx#ancor>

Financiera Rural (2011). Monografía del frijol. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial Dirección Ejecutiva de Análisis Sectorial, México, Agosto de 2011.

Flores, C., (2010). Proceso óptimo de cocción de una variedad de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de amplio consumo con un alto contenido de lectinas. Tesis de Licenciatura. Química de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México.

Fogel, R. (1991). New sources and new techniques for the study of secular trends in nutritional status, health, mortality, and the process of aging. National Bureau of Economic Research Working Paper Series on Historical Factors and Long Run Growth.

Fogel, R. (1994a). Economic growth, population theory, and physiology: The bearing of long-term processes on the making of economic policy. *American Economic Review*, 84(3): 369-395.

Fogel, R. (1994b). The relevance of malthus for the study of mortality today: long run influences on health, morality, labour force participation and population growth. En: Lindahl, K. & Landberg, H. (Eds.), *Population, economic development and the environment*. Oxford and New York: Oxford University Press, pp. 231-284.

Frassetto, L.; Todd, K.; Morris, R. & Sebastian, A. (2002). Worldwide incidence of hip fracture in elderly women: relation to consumption of animal and vegetable foods. *J. Gerontol.*, 55(10): M585–M592.

Galván, M.; Wolff, M.; Torres, L.; López-Cervantes, M. & López-Carrillo, L. (2007). Assessing phytochemical intake in a group of Mexican women. *Salud Pública México*, 49(2): 126-131.

Gálvez, A. (2011). Producción y aprovechamiento de un aislado de frijol como alimento funcional y su influencia en la expresión génica que afecta lipogénesis. Informe anual de resultados del proyecto. Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICYTDF).

Gálvez, A. & Bourges, H. (2012). La alimentación en la Ciudad de México. En: Los riesgos para la Salud en la vida de una Megametrópolis. Seminario sobre Medicina y Salud 2012. Memoria I. Facultad de Medicina, UNAM. México, pp. 366-403.

Gálvez, A.; Flores, I. & Farrés, A. (2013). Proteínas. En: Badui, S. (Ed.), Química de los alimentos, 5ta. ed., Pearson Educación, México, pp. 94-221.

García, E. (2010). Biocolorantes de maíz criollo del Estado de Tlaxcala. Perfil de antocianinas. Tesis de Licenciatura. Química de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México.

García, R. (1995). Historia de la Nutrición en Salud Pública. En: Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Masson, Barcelona, España. pp. 48-55.

Gaucín, S., (2012). "Se desploma el consumo de frijol en México: FIRA" en *Milenio*. 12 de julio de 2012, Negocios.

Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta. Biol. Colom.*, 13(3): 27-36.

Giusti, M. & Wrolstad, R. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Curr. Protoc. Food Analyt. Chem.*, F1.2.1-F1.2.13.

Granito, M.; Guinand, J.; Pérez, D. & Pérez, S. (2009). Valor nutricional y propiedades funcionales de *Phaseolus vulgaris* procesada: un ingrediente potencial para alimentos. *Interciencia*, 34(1): 64-70.

Grela, E.; Studzinski, T. & Matras, J. (2001). Antinutrients factors in seeds of *Lathyrus sativus* cultivated in Poland. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2: 101-104.

Gutiérrez, J.; Rivera-Dommarco, J.; Shamah-Levy, T.; Villalpando-Hernández, S.; Franco, A.; Cuevas-Nasu, L., et al. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.

Gross, J. (1987). Pigments in fruits. Academic Press, London, pp. 59-85.

Harborne, J. (1989). Plant Phenolics. En: Dey, P. & Harborne, J. (Eds.). Methods in Plant Biochemistry, Academic Press, London, 1: 5-48.

Hettiarachchy, N. & Ziegler, G. (1994). Protein functionality in food systems. Marcel Dekker, New York, pp.1-95.

Herrera, F.; Cárdenas, S.; Ortiz, C.; Acosta, G. & Mendoza, C. (2005). Anatomía de la vaina de tres especies del género *Phaseolus*. *Agrociencia*, 39(6): 595-602.

Herman, E.; Helm, R.; Jung, R. & Kinney, A. (2003). Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean. *Plant Physiol.*, 132: 36-43.

Hernández, P.; Pérez, E.; Martínez, L.; Ortiz, B. & Martínez, G. (2005). Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. *Revista de Educación Bioquímica*, UNAM, 24(1): 21-27.

Hernández, V.; Vargas, M.; Muruaga, J.; Hernández, S. & Mayek, N. (2013). Origen, domesticación y diversificación del frijol común: avances y perspectivas. *Rev. Fitotec. Mex.*, 36(2): 95-104.

Heyden, D. & Velasco, A. (1997). Aves van, aves vienen: el guajolote, la gallina y el pato. En: Long, J. (Coord.). Conquista y comida: consecuencias del encuentro de dos mundos. UNAM, pp. 237--253.

Iniestra, G.; Ibarra, F.; Gallegos, J.; Rocha, N. & González, R. (2005). Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia*, 39: 603-610. Israelachvili, J. (1992). Intermolecular and surface Forces, Academic Press, London, 1992.

Jacinto-Hernández, C. & Campos-Escudero, A. (1993). La cocción sobre algunas características nutricionales del frijol, *Agron. Mesoamericana*, 4: 42-47.

Jaffé, W.; Levy, A. & González, D. (1974). Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. *Phytochem.*, 13: 2685-2693.

Kakade, M.; Rackis, J.; McGhee, J.; Puski, G., (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, 51: 376–382.

Kennedy, A. (1998). The Bowman-Birk inhibitor from soybeans as an anticarcinogenic agent. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68: 1460S-1412S.

Khalid, E.; Babiker, E., & Tinay, A. (2002). Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chem.*, 82: 361–366.

Kigel, J. (1999). Culinary and nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* seeds as affected by environmental factors. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 3(4): 205-209.

Kinsella, J. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 7: 219-280.

Kinsella, J.; Damodaran, S. & German, J. (1985). Physicochemical and functional Properties of oil-seed proteins with emphasis on soy proteins. En: Altshul, A. & Wilcke, H. (Eds), *New Protein Foods: Seed Storage Proteins*, Academic Press, London, pp. 107-179.

Kunitz (1974). Crystallization of trypsin inhibitor from soybean. *Sci.*, 101: 135-140.

Lajolo, M. & Genovese, M. (2002). Nutritional Significance of Lectins and Enzyme Inhibitors from Legumes. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 6592–6598.

Lawhon, J., Cater, C. & Mattil, K. (1972). A whippable extract from grandless cottonseed flour. *J. Food Sci.*, 37(2): 317-321.

Leterme, P. & Muñoz, C. (2002). Factors influencing pulse consumption in Latin America. *Brit. J. Nutr.*, 88: S251-S254.

Liener, I. (1989). Antinutritional factors. En: Matthews, R (Ed.), *Legumes. Chemistry, Technology and Human Nutrition*, Academic Press, N.Y., USA, pp. 7-57.

Lin, M.; Humbert, E. & Sosulski, F. (1974). Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Sci.*, 39: 368-370.

López, G. (2001). Elaboración de un complemento alimenticio líquido utilizando proteínas aisladas del ajonjolí. Tesis de Licenciatura. Química de Alimentos. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

López, G.; Flores, I.; Gálvez, A.; Quirasco, M. & Farres, A. (2003). Development of a liquid nutritional supplement using a *Sesamun indicum* L. protein isolate. *LWT Food. Sci. Technol.* 36: 67-74.

López, L. (1993). The role of legumes crop in sustainable agriculture. The case of lupine. *Advances in Lupin Research. Agronomy & Production*, pp. 272-289.

Lowry, O.; Rosebrough, N.; Farr, A. & Randall, R. (1951). Protein measurements with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.

Ma, Y. & Bliss, F. (1978). Seed proteins of common bean. *Crop Sci.*, 18: 431-437.

Makri, E. & Doxastakis, G. (2006). Emulsifying and foaming properties of *Phaseolus vulgaris* and *coccineus* proteins. *Food Chem.*, 98: 558-568.

Márquez, C. (2011). Efecto del aislado de proteína de ajonjolí sobre la expresión génica de SREBP-1c y FAS y su relación con los niveles de insulina, glucagon, glucosa, colesterol y triglicéridos en suero. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Martínez, J. & Villezca, B. (2003). La alimentación en México: un estudio a partir de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares. Notas. *Revista de Información y Análisis*, 21: 26-37.

Massey, L. (2003). Dietary animal and plant protein and human bone health: A whole foods approach. *J. Nutr.*, 133(3): 862S-865S.

Mayer-Foulkes, D. (2001). The long-term impact of health on economic growth in Mexico, 1950-1995. *J. Int. Development*, 13(1): 123-12.

Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35: 341-371.

Mazza, G. (2000). Alimentos funcionales: Aspectos bioquímicos y de procesos, Acribia, España, pp. 291-325, 401-404.

McWatters, K. & Cherry, J. (1977). Emulsification, foaming and protein solubility properties of defatted soybean, peanut, field pea and pecan flours. *J. Food Sci.*, 42: 1444-1447.

Meilgaard, M.; Vance-Civille, G. & Thomas-Carr, B. (1999). Affective test: Consumer test and in-house panel acceptance test. En: Meilgaard, M. Vance Civille, G. & Thomas Carr, B. (Eds), *Sensory Evaluation Techniques*, CRC Press, pp. 231-263.

Merrill, A. & Watt, B. (1973). Valor energético de los alimentos: Base y derivación. *Manual de Agricultura N° 74*. Washington, DC.

Miranda, C. (1987). Infiltración genética entre *Phaseolus coccineus L.* y *Phaseolus vulgaris L.*, E.N.A., Serie de Investigación, 9: 488.

Montilla, E.; Antezana, A. & Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. *Memorias Red-Alfa-Lagrotech, Comunidad Europea, Cartagena, Colombia*, pp. 79-95.

Morales de León, J.; Vázquez-Mata, N.; Torres, N.; Gil-Zenteno, L. & Bressani, R. (2007). Preparation and characterization of protein isolate from fresh and hardened beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *J. Food Sci.*, 72(2): C96-C102.

Motohashi, N. & Sakagami, H. (2008). Functionality of anthocyanins as alternative medicine. *Top Heterocycl. Chem.*, Springer-Verlag, 15:1-48.

Muller, H. & Gottschalk, W. (1983). The genetic control of seed protein production in legumes. En: Nijhoff, M. & Junk, W. (Eds.), *Seed Proteins. Biochemistry, Genetics, Nutritive value*. The Hague, Netherlands. pp. 309–353.

Muñoz, M. & Chávez, A. (1998). El impacto del maíz fortificado con proteínas y micronutrientes en una comunidad rural. Informe técnico de la evaluación anual sobre el efecto nutricional de la harina de maíz nixtamalizada fortificada. INCMNSZ, México.

Muzquiz, M.; Pedrosa, M.; Varela, A.; Guillamón, E.; Goyoaga, C.; Cuadrado, C. & Burbano, C. (2006). Factores no-nutritivos en fuentes proteicas de origen vegetal: su implicación en Nutrición y Salud. *Brazilian J. Food Tech.*, pp. 93-96.

Navarrete, D. & Bressani, R. (1981). Protein digestibility and protein quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*) fed alone and with maize, in adult humans using a short-term nitrogen balance assay. *Am. J. Clin. Nutr.* 34(9): 1893-1898.

NMX-F-378-S-1980. Frijol Precocido Deshidratado. Dehydrated pre-cooked bean. Dirección General de Normas. México.

NMX-FF-038-SCFI-2013. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - Fabaceas – Frijol (*Phaseolus Vulgaris L.*) - Especificaciones y métodos de prueba.

NMX-F-006-1983. Alimentos. Galletas. Food. Cookie. Normas mexicanas. Dirección General de Normas. México.

NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa. Dirección General de Normas. México.

NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Dirección General de Normas. México.

NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos. Dirección General de Normas. México.

NOM-113-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Métodos para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa. Dirección General de Normas. México.

NOM-130-SSA1-1995. Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Dirección General de Normas. México.

NOM-147-SSA1-1996. Bienes y Servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, semolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, semolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones Sanitarias y nutrimentales. Dirección General de Normas. México.

NOM-187-SSA1-SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Dirección General de Normas. México.

NOM-247-SSA1-2008. Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, semolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, semolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Dirección General de Normas. México.

Nowell, P. (1960). Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.*, 20: 462-466.

NRC (National Research Council; 1989). Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances. National Academy Press, 10 ed., Washington, D.C.

OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, 2012). Obesity update. Health Division. Consultada el 13 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.oecd.org/health/fitnofat>

Okezie, B. & Bello, A. (1988). Physicochemical and functional properties of winged Bean Flour and Isolate Compared with Soy Isolate. *J. Food Sci.*, 53(2): 450-454.

Olaíz-Fernández, G.; Rivera-Dommarco, J.; Shamah-Levy, T.; Rojas, R.; Villalpando-Hernández, S.; Hernández-Ávila, M. & Sepúlveda-Amor, J. (2006). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.

OMS (Organización Mundial de la Salud, 2006). Global Database on Body Mass Index. Consultada el 14 de enero de 2014. Disponible en: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html

OMS (Organización Mundial de la Salud, 2013). Obesidad. Consultada el 14 de enero de 2014. Disponible en: http://www.paho.org/mex/index.php?option=com_content&view=category&id=824.

OMS (Organización Mundial de la Salud, 2014). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Enfermedades crónicas. Consultada el 14 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/es/>

Onyilagha, J. & Islam, S. (2009). Flavonoids and other polyphenols of the cultivated species of the genus *Phaseolus*. *Int. J. Agric. Biol.*, 11: 231-234.

ONU (Organización de las Naciones Unidas; 2012). Declaración Universal de Derechos Humanos. Departamento de Información Pública. Consultada el 24 de febrero de 2014. Disponible en: http://www.un.org/es/documents/udhr/index_print.shtml#atop

Oohmah, D.; Corbé, A. & Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Hulls. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 8225-8230.

OPS (Organización Panamericana de la Salud, 2013). La obesidad es un factor de riesgo y una responsabilidad compartida. Consultada el 3 de marzo de 2014. Disponible en:

http://www.paho.org/pan/index.php?option=com_content&view=article&id=787:la-obesidad-un-factor-riesgo-responsabilidad-compartida&Itemid=

Ortega-Rivas, E. (2006). Manejo y Procesamiento de Manejo y Procesamiento de Polvos y Granulados Alimenticios. XXIII Semana del Químico, 27 al 29 de Noviembre del 2006, Universidad de Colima, México.

Ortiz-Huidrobo, R.; Márquez-Mota, C.; Quiñones-Peña, A.; Tovar-López, E.; Gálvez-Mariscal, A.; Tovar, A. & Torres, N. (2012). Fasting and refeeding regulate in different manner SNAT 2, SREBP-1 and 2, mTOR, serum insulin in animals fed different types of protein. *The FASEB J.*, 26: 1013.18.

Oxfam (2011). Cultivar un mundo mejor: Justicia alimentaria en un mundo de recursos limitados. Consultado el 4 de febrero de 2014. Disponible en: <http://www.oxfam.org/sites/www.oxfam.org/files/growing-a-better-future010611-en.pdf>

PANTONE (2004). Pantoner formula guide, coated/uncoated, 2nd edition.

Paredes, O.; Guevara, F. & Bello, L. (2006). Los alimentos mágicos de las culturas mesoamericanas. Fondo de Cultura Económica. La ciencia para Todos, pp.1-205.

Parris, N. & Gillespie, P. (1988). En: Cherry, J. & Barford, R. (Eds.), *Methods for Protein Analysis*, The American Oil Chemists Society, pp. 142-155.

Pascual-Teresa, S.; Moreno, D. & García-Viguera, C. (2010). Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int. J. Mol. Sci.*, 11: 1679-1703.

Pearce, K. & Kinsella, J. (1978). Emulsifying properties of proteins. Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 716-722.

Peña, M. & Bacallao J. (2000). La obesidad y condicionamientos económicos, socioculturales y ambientales. En: Zuñiga, A., La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para la salud. Organización Panamericana de la Salud, Washington, DC.

Prior, R. & Wu, X. (2006). Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radic. Res.*, 40: 1014-1028.

Quinn, J. & Paton, D. (1979). A Practical measurement of water hydration capacity of protein materials. *Cereal Chem.*, 56(1): 38.

Quiñones, A. (2010). Obtención de un concentrado de proteína de frijol negro, caracterización fisicoquímica y efecto en la concentración de insulina y expresión génica de SREBP-1. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Químicas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Rawe, K.; Jayasinghe, D.; Mason, F.; Davis, A.; Pizzini, M.; Garde, M. & Crosby, L. (2012). A life free from hunger. Tackling child malnutrition (Report). Save the Children Foundation, UK, pp. 1-116.

Reyes, C. & Paredes, O. (1993). Hard-to-cook phenomenon in common beans: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 33: 227-286.

Reynoso, R.; Ríos, M.; Torres, I.; Acosta, J.; Palomino, A.; Ramos, M.; González, E. & Guzmán, S. (2007). El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Agric. Téc. Méx.*, 33(1): 43-52.

Rivera-Dommarco, M.; Cuevas-Nasu, L.; González de Cosío, T.; Shamah-Levy, T. & García-Feregrino, R. (2013). Desnutrición crónica en México en el último cuarto de siglo: análisis de cuatro encuestas nacionales. *Salud Pública de México*, 55(2): S161-S169.

Rodríguez-Licea, G.; García-Salazar, J.; Rebollar-Rebollar, S. & Cruz-Contreras, A. (2010). Preferencias del consumidor de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) en México: factores y características que influyen en la decisión de compra diferenciada por tipo y variedad. *Paradigma económico*, 2(1): 121.145.

Rosales, S.; Acosta, J.; Durán, R.; Guillén, H.; Pérez, P.; Esquivel, G. & Muruaga, J. (2003). Diversidad genética del germoplasma mejorado de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. *Agric. Téc. Méx.*, 29(1): 11-24.

Rui, X.; Boye, J.; Ribereau, S.; Simpson, B. & Prasher, S. (2011). Comparative study of the composition and thermal properties of protein isolates prepared from nine *Phaseolus vulgaris* legume varieties. *Food Res. Int.*, 44(8): 2497-2504.

Salinas, Y.; Rojas, L.; Sosa, E. & Pérez, P. (2005). Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia*, 39(4): 385-394.

Sánchez, M.; Jiménez, S. & Morgado, J. (2009). La homocisteína: un aminoácido neurotóxico. *REB*, 28: 3-8.

Sánchez, R.; Manriquez, J.; Martínez, F. & López, L. (2001). El frijol en México: competitividad y oportunidades de desarrollo. Boletín Informativo No. 13 Vol. XXXIII. FIRA, Banco de México. México, pp. 74.

Sangronis, E. & Machado, C. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus Cajan*. *Food Sci. Tech.*, 40(1): 116-120.

Sarwar, G. & McDonough, F. (1990). Evaluation of protein digestibility-corrected amino acid score method for assessing protein quality of foods. *J. Assoc. Off. Analyt. Chem.*, 73(3): 347-356.

Sathe, S. (2002). Dry bean protein functionality. *Crit. Rev. Biotech.*, 22(2): 175-223.

Savage, G.; Morrison, S. & Benjamin, C. (2003). Trypsin Inhibitors. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Oxford: Academic Press, pp. 5878-5884.

Save the Children (2012). Ver Rawe et al., 2012.

Schägger, H. & Van Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis for separation of proteins in the range from 1 to 1000 kDa. *Analyt. Biochem.*, 166: 368-379.

Schuck, P.; Dolivet, A.; Méjean, S.; Zhu, P.; Blanchard, E. & Jeantet, R. (2009). Drying by desorption: a tool to determine spray drying parameters, *J. Food Eng.*, 94: 199–204.

Scott, N. (1997). La comida como signo: los encuentros culinarios de América. En: Long, J. (Coord.). Conquista y comida: consecuencias del encuentro de dos mundos. UNAM, pp. 145-154.

Sharma, P.; Kaul, S. & Dhar, M. (2006). Can phaseolin patterns help resolve the *Phaseolus–Vigna* complex? *Gen. Res. Crop Evol.*, 53: 1573–1578.

SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera; 2012). Cierre de la producción agrícola por cultivo y por estado. SAGARPA. Consultado el 4 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>

SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera; 2013). Balanzas disponibilidad-consumo de productos agrícolas 2009-2013. SAGARPA. Consultado el 4 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/balanza-disponibilidad-consumo/>

SINAIS (Sistema Nacional de Información en Salud; 2012). Principales causas de mortalidad general 2000-2008. Secretaria de Salud. Disponible en: <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/>

Singh, S. (1999). Production and utilization. En: Singh, S. (Ed.), Common bean improvement in the twenty-first century, pp. 1-24

Stanislaus, J.; Smolenski, A.; Kinghorns, D. & Baladrin, M. (1981). Toxic constituents of legume forage plants. *Economic Botany*, 35(3): 321-355.

Sierra, J. (1999). Alimentos tradicionales mexicanos a punto de extinguirse. Urge reorientar la producción y el consumo. Gaceta Universitaria, Universidad de Guadalajara, publicada el 17 de mayo de 1999.

Slavin, J. (1987). Dietary fiber: classification, chemical analysis, and food sources. *J. Am. Diet Ass.*, 87: 1164-1171.

Smith, C.; Megen, W.; Twaalfhoven, L. & Hitchcock, C. (1980). The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 31: 341-350.

Smith, B. (2006). Eastern North America as an independent center of plant domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103: 12223- 12228.

Staswick, P.; Chapell, J.; Voclker, T.; Vitale, A. & Chrispeels, M. (1986). Molecular biology of seed storage proteins and lectins. En: Shanon, L. & Chrispeels, M. (Eds), *Annu. Symp. Plant Physiology*, University of California, American Soc. Plant Phys., pp. 107–115.

Tiwari, B.; Gowen, A. & McKenna, B. (2011). Pulse Foods. Processing, Quality and Nutraceutical Applications. Academic Press, pp. 1-8.

Tovar, A. & Torres, N. (2010). The role of dietary protein on lipotoxicity. *Biochem Bioph. Acta.*, 1801: 367-371.

Troll, W.; Frenkel, K. & Wiesner, R. (1987). Protease inhibitors: possible preventive agents of various types of cancer and their mechanisms of action. *Current Concepts and Approaches to the Study of Prostate Cancer*, pp. 297-315.

Ulloa, A.; Rosas, P.; Ramírez, J. & Ulloa, B. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Fuente*, 8: 5-9.

UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, 2010). Consultada el 2 de abril de 2013. Disponible en: <http://www.unesco.org/culture/ich/index.php?lg=es&pg=00011&RL=00400>

USDA (2010a). National Nutrient Database for Standard Reference. *Productos Horneados*, Cake, snack cakes, cupcakes, chocolate, with frosting, low-fat. Release 23, NDB No. 18452.

USDA (2010b). National Nutrient Database for Standard Reference. *Cereales, granos y pasta*, Masa Tortilla, Corn flour, masa, enriched, white. Release 23, NDB No. 20017.

USDA (2010c). National Nutrient Database for Standard Reference. Food Group 16. Legumes and Legumes Products. *Leguminosas, Beans, black, mature seeds, raw Phaseolus vulgaris*. Release 23 NDB No. 16014.

USDA (2010d). National Nutrient Database for Standard Reference. Food Group 16. Legumes and Legumes Products. *Leguminosas, Beans, baked home prepared*. Release 23 NDB No. 16005.

USDA (2010e). National Nutrient Database for Standard Reference. Food Group 16. Legumes and Legumes Products. *Leguminosas*. Release 23.

Valle, P. (2013). Tóxicos presentes en los alimentos. En: Badui, S. (Ed.), *Química de los alimentos*, 5ta. ed., Pearson Educación, México, pp. 571-609.

Vargas, L. (2002). La alimentación de los criollos y mestizos en el México colonial. En: Bourges, H. & Alarcón (Eds.), *La Alimentación de los mexicanos*, El Colegio Nacional, México, pp. 47-66.

Vargas, L. & Casillas, L. (1997). El encuentro de dos cocinas: México en el siglo XVI. En: Long, J. (Coord.). *Conquista y comida: consecuencias del encuentro de dos mundos*. UNAM, pp. 155-168.

van't Veer, P.; Jansen, M.; Klerk, M. & Kok, F. (2010). Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public Health Nutr.*, 3: 103-107.

Voysest, V. (2000). Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Centro Americano de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, pp. 195-202.

Walstra, P. (1996). Emulsion stability. En: Becher, P. (Ed.), *Encyclopedia of Food Emulsion Technology*, Marcel Dekker, New York, 4.

Wang, S. & Jiao, H. (2000). Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 5677-5684.

Wang, L-S. & Stoner, G. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*, 269: 281-290.

Welham, T. & Domoney, C. (2000). Temporal and spatial activity of a promoter from a pea enzyme inhibitor gene and its exploitation for seed quality improvement. *Plant Sci.*, 159: 289-299.

Wildman, E. & Kelley, M. (2007). *Nutraceuticals and Functional Foods*. En: *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, 2da. ed., CRC Press.

Wisbaum, W. (2011). La desnutrición infantil. Causas, consecuencias y estrategias para su prevención y tratamiento. UNICEF, España, pp. 1-32.

Winham, D. & Hutchins, A. (2007). Baked bean consumption reduces serum cholesterol in hypercholesterolemic adults. *Nutr. Res.*, 27: 380-386.

Zizumbo, D. & Colunga, M. (2010). Origin of agriculture and plant domestication in West Mesoamerica. *Genet. Res. Crop Evol.*, 57: 813-825.

“Ante los cambios desmesurados en nuestros hábitos alimentarios, la rentabilidad del cultivo y consumo de frijol deben ser guiados por varios factores entre los que la investigación y la difusión realizada se centren en revalorizar su consumo y proteger la tradición mexicana. Debemos actuar de inmediato, porque es posible que el costo en salud que pague la sociedad en las siguientes décadas sea mucho mayor a la inversión requerida para implementar acciones de prevención”

Gabriela Salinas