



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Procesamiento de Extrusión para Obtener Harina Funcional  
de Frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*) con Valor  
Nutricional / Nutracéutico Alto. Optimización de Proceso.**

# **T E S I S**

que presenta  
**LTA Alette Gastélum Ávila**  
para obtener  
el grado de  
**MAESTRA EN CIENCIA  
Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Director de Tesis  
**Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez**  
**Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno**

**Culiacán de Rosales, Sinaloa, México**

**agosto 2018**

## **PRESENTACIÓN**

El presente trabajo de investigación titulado “Procesamiento de Extrusión para Obtener Harina Funcional de Frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*) con Valor Nutricional/Nutracéutico Alto. Optimización de Proceso.”, se llevó a cabo en los Laboratorios de “Bioprocesos y Alimentos Funcionales”, “Nutracéuticos” y de “Química y Productos Naturales”, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Los C Dr Cuauhtémoc Reyes Moreno y Dra Edith Oliva Cuevas Rodríguez participaron como Directores de Tesis; la C Dra Saraid Mora Rochín participó como Asesor Académico. Para la realización de la investigación se obtuvo financiamiento a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI), Universidad Autónoma de Sinaloa (Convocatoria 2016). La LTA Aliette Gastélum Ávila recibió “Beca de Estudios para maestría” del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) durante la realización de la mencionada investigación.



# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**

## **CARTA CESION DE DERECHOS**

En la Ciudad de **Culiacán Sinaloa**, el día **15** del mes **enero** del año **2019**, el (la) que suscribe **LTA. Alette Gastélum Ávila** alumno (a) del Programa de **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos** con número de cuenta **16674537**, de la Unidad Académica **Facultad de Ciencias Químico Biológicas** manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de **Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno** y **Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez** y cede los derechos del trabajo titulado **“EFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN-COCCIÓN SOBRE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS/NUTRICIONALES/NUTRACÉUTICAS DEL FRIJOL TÉPARI (*Phaseolus acotifolius*). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO”**, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Alette Gastélum

**LTA. Alette Gastélum Ávila**

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por las muchas bendiciones recibidas y por proporcionarme los medios para cumplir con esta meta de mi vida. A mis padres **Mariana Ávila** y **José Luis Gastélum**, por impulsarme y apoyarme en cada etapa de mi vida y por ser mi guía en las decisiones que he tomado, por enseñarme que la educación y las buenas creencias forman buenas personas, gracias por su amor, dedicación, paciencia y bondad siempre brindada.

A mi hermana **Iris Gastélum** y mi cuñado **José Luis Isaguirre** y a su familia que me abrieron las puertas de su hogar para que yo pudiera realizar mis estudios en esta ciudad, por cuidarme cuando estaba enferma y por apoyarme en cada una de las etapas que tuve en el desarrollo de la maestría, ¡Los quiero mucho!

A los doctores que estuvieron a lo largo de esta investigación, ya que sin ellos no hubiese podido realizar este trabajo, especialmente a la **Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez** por impulsarme a aprender más y siempre dar el mejor resultado, por su motivación y entusiasmo en cada etapa del proyecto.

Al **Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno** por confiar en mí en un principio y aceptarme como parte de su equipo de trabajo y compartir todos sus conocimientos y aplicaciones en este proyecto.

A la **Dra. Liliana León** y **Dr. Luis Sánchez** por siempre apoyarme y asesorarme en mis dudas e instruirme con su paciencia y dedicación, además de brindarme su amistad. Gracias.

A mis amigos y compañeros de la MCTA Generación 2016-2018: **Jordi, Fernanda, Yazmín, Yudith, Maribel, Cynthia, Demis, Martin, Carlos, Carolina, Samuel, Julio, Yessenia y Santos**, por haber compartido muchas experiencias juntos, que sin duda siempre recordare con mucho cariño.

A mis compañeros del Laboratorio 18 **Eslim, Astrid, Oscar, Jessica, Itzel, Eduardo, Joseline y Gabriela**, gracias por apoyarme y ayudarme en mis dudas y brindarme sus conocimientos y amistad.

A la **Dra. Xiomara Perales, Dr. Roberto Gutiérrez y MC. Fernando Salas** del Laboratorio 20 que ayudaron y apoyaron siempre con todos sus consejos y conocimientos para este trabajo.

A los profesores de la MCTA, quienes brindaron sus enseñanzas para formar los conocimientos adquiridos y empleados en esta investigación.

A mi novio **Octavio Angulo** por darme todo su apoyo y comprensión en esos días de estrés y estudio, por impulsarme y motivarme a seguir y siempre dar lo mejor de mí, ¡Te amo!

A la **Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa**, por abrirme sus puertas y aceptarme en este gran programa de maestría, por permitirme formarme como profesional dentro de sus instalaciones.

## ÍNDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS .....	VII
INDICE DE CUADROS .....	VIII
I RESUMEN .....	1
II INTRODUCCIÓN .....	4
III REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
<b>A FRIJOL TÉPARI (<i>PHASEOLUS ACUTIFOLIUS</i>).....</b>	<b>7</b>
1. Origen .....	7
2. Taxonomía y aspectos agronómicos .....	7
3. Producción e importancia económica .....	10
4. Composición química.....	11
a. Proteínas .....	11
b. Lípidos .....	13
c. Carbohidratos .....	13
d. Vitaminas y Minerales.....	13
e. Fibra.....	14
5. Valor nutricional .....	14
a. Aminoácidos esenciales .....	14
b. Digestibilidad proteínica.....	15
c. Ácidos grasos esenciales .....	17
6. Fitoquímicos en frijol tépari .....	17
7. Propiedades nutraceuticas.....	19
8. Factores antinutrimientales.....	21

a.	Lectinas .....	22
b.	Saponinas.....	22
c.	Ácido Fítico .....	23
d.	Taninos .....	24
e.	Inhibidores de Tripsina .....	24
9.	Tecnologías para el procesamiento de leguminosas.....	25
<b>B.</b>	<b>EXTRUSIÓN .....</b>	<b>25</b>
1.	Generalidades.....	26
2.	Tipos de extrusores.....	26
3.	Componentes de un extrusor.....	27
4.	Factores que afectan el proceso de extrusión .....	28
5.	Efecto de la extrusión sobre composición química de leguminosas.....	28
6.	Efecto de la extrusión sobre el valor nutricional de leguminosas .....	31
7.	Efecto de la extrusión sobre perfiles y niveles de fitoquímicos en leguminosas .....	32
8.	Efecto de la extrusión sobre propiedades nutracéuticas de leguminosas	33
<b>IV.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>V.</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>36</b>
<b>VI.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
<b>A.</b>	<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>37</b>
<b>B.</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>37</b>
<b>VII.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>

<b>A. MATERIALES</b> .....	<b>38</b>
<b>B. MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
1. Características físicas del grano .....	38
a. Dimensiones físicas.....	38
b. Peso de 1,000 granos.....	38
c. Peso hectolítrico .....	38
d. Calibre .....	39
2. Propiedades fisicoquímicas de los granos.....	39
a. Diferencia total de color ( $\Delta E$ ).....	39
b. Actividad acuosa ( $a_w$ ).....	40
c. pH .....	40
3. Características químicas del grano.....	40
a. Humedad .....	41
b. Proteínas .....	41
c. Lípidos .....	41
d. Minerales .....	41
e. Fibra dietaria Total.....	42
f. Carbohidratos .....	43
4. Obtención de la harina de frijol tépari extrudido.....	43
5. Evaluación de las variables de respuesta en harinas de frijol tépari (HFT)..	44
a. Fitoquímicos y actividad antioxidante .....	44
1) Extracción de fitoquímicos libres .....	44
2) Extracción de fitoquímicos ligados .....	46
<b>3) Compuestos Fenólicos totales</b> .....	<b>48</b>

4) Actividad Antioxidante (AAox) .....	48
b. Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV) .....	49
6. Optimización del proceso de extrusión para la obtención de harinas de frijol tépari.....	50
a. Obtención de harina de frijol tépari extrudido (HFTE) .....	50
b. Metodología de superficie de respuesta, diseño experimental, análisis estadístico para la optimización del proceso de extrusión .....	51
c. Optimización .....	52
7. Obtención de harina de frijol tépari extrudido optimizado (HFTEO) .....	52
8. Evaluación de HFTEO .....	54
a. Composición química .....	54
b. Propiedades fisicoquímicas .....	54
1) diferencia total de color ( $\Delta E$ ) .....	54
2) Actividad acuosa .....	54
3) pH.....	54
c. Propiedades Funcionales y Nutricionales.....	54
1) Índice de absorción de agua (IAA) .....	55
2) Índice de solubilidad en agua (ISA).....	55
3) Índice de absorción de aceite (IAAc).....	55
4) Índice de dispersabilidad .....	56
5) Formación y estabilidad de espuma.....	56
6) Capacidad de formación y estabilidad de emulsión .....	57
7) Digestibilidad Proteínica <i>in vitro</i> (DPIV).....	57
d. Factores antinutrimientales .....	57

1) Fitatos.....	57
2) Inhibidores de tripsina .....	58
3) Taninos condensados .....	60
4) Saponinas.....	61
e. Análisis de fitoquímicos por cromatografía en capa fina (TLC).....	63
1) Alcaloides .....	63
2) Flavonoides .....	64
3) Taninos.....	64
4) Saponinas.....	64
5) Triterpenos y/o esteroides.....	65
6) Derivados antracénicos libres .....	65
7) Cumarinas volátiles .....	66
8) Cardiotónicos.....	66
f. Contenido de Fitoquímicos y Actividad antioxidante (AAox) .....	66
1) Extracción de fitoquímicos libres .....	67
2) Extracción de fitoquímicos ligados .....	67
3) Compuestos fenólicos totales.....	67
4) Flavonoides totales.....	67
5) Taninos condensados .....	67
6) Actividad antioxidante ABTS .....	68
9. Análisis estadístico.....	68
<b>VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>69</b>
<b>A. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS GRANOS DE FRIJOL TÉPARI.....</b>	<b>69</b>

<b>B. MEJORES CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE HARINA DE ..... 69</b>	
<b>FRIJOL TÉPARI EXTRUDIDA CON CONTENIDO DE COMPUESTOS</b>	
<b>FENÓLICOS TOTALES (CFT), ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (AAox) Y</b>	
<b>DIGESTIBILIDAD PROTEÍNIC <i>IN VITRO</i> (DPIV) ALTOS .....</b>	<b>71</b>
1. Modelos de predicción .....	71
a. Compuestos fenólicos totales (CFT) .....	71
b. Actividad antioxidante (AAox).....	75
c. Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV) .....	78
2. Optimización del proceso de extrusión .....	81
<b>C. COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y</b>	
<b>FUNCIONALES DE HARINA DE FRIJOL TÉPARI CRUDA (HFTC) Y OPTIMIZADA</b>	
<b>(HFTEO) .....</b>	<b>81</b>
<b>D. FACTORES ANTINUTRIMENTALES DE HARINAS DE FRIJOL TÉPARI</b>	
<b>CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO (HFTEO) .....</b>	<b>91</b>
<b>E. ANÁLISIS FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC)</b>	
<b>DE HARINAS DE FRIJOL TÉPARI CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO</b>	
<b>(HFTEO) .....</b>	<b>97</b>
<b>F. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y NIVELES DE FITOQUIMICOS DE HARINAS</b>	
<b>DE FRIJOL TÉPARI CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO (HFTEO).....</b>	<b>98</b>
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>105</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>107</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>121</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Fig.</b>	<b>Descripción</b>	<b>Pág.</b>
<b>1</b>	Estructura de la semilla de frijol tépari ( <i>Phaseolus acutifolius</i> ).	9
<b>2</b>	Componentes principales de un extrusor	30
<b>3</b>	Diagrama de flujo del proceso de extrusión de semillas de frijol tépari	45
<b>4</b>	Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados para la determinación de actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales	47
<b>5</b>	Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el contenido de Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g, bs) de las harinas de frijol tépari extrudido	73
<b>6</b>	Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el contenido de Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g, bs) de las harinas de frijol tépari extrudido	74
<b>7</b>	Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre la Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g, bs}$ ) de las harinas de frijol tépari extrudido	76
<b>8</b>	Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre la Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g, bs}$ ) de las harinas de frijol tépari extrudido	77
<b>9</b>	Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el porcentaje de Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (%) de las harinas de frijol tépari extrudido	79
<b>10</b>	Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el porcentaje de Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (%) de las harinas de frijol tépari extrudido	80
<b>11</b>	Región de superposición de gráficos de contorno con la mejor combinación de variables de proceso, para la producción de harina de frijol tépari extrudida optimizada	82

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Pág.</b>
1	Composición química de frijol tépari	12
2	Contenido de aminoácidos esenciales presentes en frijol tépari y común	16
3	Características físicas de los granos de frijol tépari	70
4	Diseño experimental utilizado para la obtención de diferentes combinaciones de temperatura de extrusión/velocidad de tornillo para la producción de harinas de frijol tépari extrudido y resultados experimentales para las variables de respuesta	72
5	Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harina de frijol tépari crudo (HFTC)	83
6	Factores Antinutrimientales de harina de frijol tépari crudo (HFTC) y optimizado (HFTEO)	93
7	Análisis fitoquímico de la harina de frijol tépari crudo (HFTC) y Optimizado (HFTEO)	99
8	Actividad antioxidante y niveles de fitoquímicos de harina de frijol tépari crudo (HFTC) y optimizado (HFTEO)	101

## I RESUMEN

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*), nativo de las tierras secas del suroeste de los Estados Unidos y el noroeste de México, es un cultivo particularmente atractivo para los agricultores debido a su alta adaptabilidad a las altas temperaturas y ambientes de baja humedad. Estas cualidades lo hacen mejor que el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) para crecer en zonas áridas y semiáridas. Su alta tolerancia a la sequía podría representar importantes beneficios económicos para los agricultores. Nutricionalmente es un grano de calidad proteínica (perfil de aminoácidos completo) alta; sin embargo, es una leguminosa poco consumida debido a la presencia de algunos factores antinutrimientales.

Con el propósito de incrementar la utilización de leguminosas se han implementado un amplio rango de tecnologías de procesamiento de alimentos, como es la extrusión. La tecnología de extrusión aplicada a alimentos es un proceso continuo que combina el corte mecánico y el calor para la gelatinización del almidón y desnaturalización de proteínas, obteniéndose un producto plastificado y reestructurado con nuevas formas y texturas. Diversos estudios han mostrado que el proceso de extrusión mejora las características funcionales, nutricionales y nutracéuticas de los granos para la producción de alimentos funcionales.

El objetivo de la presente investigación fue establecer el efecto del proceso optimizado de extrusión en semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) en el perfil de fenólicos, capacidad antioxidante y digestibilidad proteínica *in vitro* para obtener harinas funcionales con valor nutricional/nutracéutico alto.

Para conocer la combinación óptima de las variables del proceso de extrusión [TE= Temperatura de extrusión (°C), VT= Velocidad de tornillo (rpm)] se utilizó, como herramienta de optimización, la metodología de superficie de respuesta (MSR), como variables de respuesta se seleccionaron CFT, AAox y DPIV. Se aplicó la MSR, como herramienta de optimización, y utilizó un diseño central compuesto rotatable de dos factores [Temperatura de extrusión (TE=60-150°C / Velocidad de tornillo (VT, 50-240 rpm)] y cinco niveles el cual generó 13 tratamientos.

Las semillas de frijol tépari escarificadas se molturaron para la obtención de harinas de frijol tépari (HFT). Las porciones de HFT (300 g) se humectaron con agua destilada hasta alcanzar un contenido de humedad del 24%. Las HFT humectadas se sometieron a reposo a 4-12°C durante 12 h; una vez transcurrido el reposo se equilibraron a temperatura ambiente (25°C) durante 2 h. éstas porciones de HFT se alimentaron al extrusor.

La mejor combinación de variables del proceso de extrusión para producir harina de frijol tépari extrudida optimizada (HFTEO) con los valores mayores de **CFT** (163.31 mg EAG/100 g, bs), **AAox** (ABTS= 9,600.29 µmol ET/100 g, bs) y **DPIV** (81.36%) fue: **TE=137°C** y **VT=220 rpm**.

El proceso de extrusión incrementó ( $p < 0.05$ ) el contenido de proteínas (7%), minerales (11%) y disminuyó el contenido de lípidos (62%) en las semillas de frijol tépari. El contenido de FDS se incrementó en 152% y disminuyó el contenido de FDI en 7%, sin embargo, la FDT se incrementó en 5% después del proceso de extrusión.

La HFTEO tuvo mayor ( $p < 0.05$ ) índice de absorción de agua (16.66 vs 5.83 g gel/g muestra seca), índice solubilidad de agua (27.45 vs 20.21 g de sólidos/100 g muestra seca), índice de absorción de aceite (2.46 vs 0.53 ml de aceite absorbido/g de muestra seca), dispersabilidad (60 vs 48.33%) y estabilidad de emulsión (84.56 vs 63.30%) que la harina de frijol tépari crudo. La harina de frijol tépari extrudida, con características nutricionales y tecnológicas mejoradas, se puede utilizar en una variedad de productos a base de frijol o en mezcla con otros alimentos para mejorar las propiedades funcionales y la calidad nutricional.

El proceso de extrusión redujo ( $p < 0.05$ ) el contenido de ácido fítico (38%), inhibidores de tripsina (63%), taninos (86%) y saponinas (13%) los cuales son considerados factores antinutrientales.

Las HFTC y HFTEO muestran la presencia moderada de alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas y triterpenos los cuales podrían impactar de forma positiva y/o negativa en la salud humana.

La HFTC presenta una composición química rica en proteínas, carbohidratos y fibra dietaria. Su siembra presenta ventajas agronómicas para la producción comercial de esta leguminosa. Además, la extrusión es un proceso que puede mejorar las características nutricionales y nutracéuticas de este grano, lo cual podría ayudar a sugerir a este grano procesado como ingrediente o alimento para desarrollar alimentos funcionales con potencial nutracéutico.

**Palabras clave:** proceso de extrusión, Frijol tépari, Metodología de superficie de respuesta, Optimización, Compuestos fenólicos totales, digestibilidad proteínica *in vitro*, actividad antioxidante.

## II INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son plantas de las que se utilizan sus semillas para la alimentación humana por ser una buena fuente proteica e interesan también por su bajo contenido lipídico y el tipo de fibra dietética que contienen. Otros aspectos de interés son su adaptación a suelos y climas poco favorables y su papel en la rotación de cosechas. Las leguminosas son clave en la seguridad nutricional de grandes grupos de población. Constituyen la principal fuente de proteínas en muchos países en desarrollo, en especial entre los grupos de población más pobres, que obtienen las proteínas y la energía de fuentes vegetales, por lo que la consideración de alimentos saludables ha favorecido el incremento de su consumo. (Begoña y col., 2010).

En el 2016, la FAO nombró el Año Internacional de las Legumbres, con el objetivo de sensibilizar a la opinión pública sobre las ventajas nutricionales de las leguminosas como parte de una producción de alimentos sostenible encaminada a lograr la seguridad alimentaria y la nutrición.

Dentro de las leguminosas usadas para consumo humano se incluyen, soya, lentejas, garbanzo y frijol (Rochfort y Panozzo, 2007). El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) es la leguminosa alimentaria más importante y una de las principales fuentes de proteína dietética en varios países en desarrollo, especialmente en América Latina, debido a su importancia nutricional y composición química es una buena fuente de energía, proteínas, fibra dietaria (principalmente fibra soluble), vitaminas hidrosolubles, minerales y ácidos grasos poliinsaturados (Paredes-López y col, 2006). Paredes y col (2006) destacan que es posible identificar a México como lugar de origen por encontrar prototipos de especies silvestres de los cinco grupos más cultivados: (1)

Frijol común (*P. vulgaris*), (2) Frijol tépari (*P. acutifolius*), (3) Frijol lima (*P. lunatus*), (4) Frijol escarlata (*P. coccineus*), (5) Frijol anual (*P. polyanthus*).

La planta de frijol tépari se cultiva en el norte de México para autoconsumo (Camacho Barrón y González de Mejía, 1998). Esta variedad de frijol posee un ciclo de producción muy corto y es más tolerante al calor que el frijol común, produce granos de alta calidad y proteína adecuada a la nutrición humana (Jiménez y Acosta 2012). Aunque las proteínas de las leguminosas son deficientes en aminoácidos azufrados (Met+Cys) y triptófano, el frijol tépari mantiene valores mayores en aminoácidos azufrados (2.43 g de AAE/100g de proteína) de la recomendación de la FAO (2013) (2.3 g/100g de proteína), de igual manera para el triptófano. El contenido de fibra total en frijol tépari es de 9.28%, el cual es mayor que el encontrado en otros granos como los cereales. Debido a estos valores el frijol es considerado como una fuente importante de fibra dietaria (Salas-López, 2015).

Con el propósito de incrementar la utilización de leguminosas se han implementado un amplio rango de tecnologías de procesamiento de alimentos, las cuales presentan un alto potencial para incrementar la calidad nutritiva, biodisponibilidad de nutrientes, palatabilidad, seguridad alimentaria, estabilidad. Entre las tecnologías usadas ampliamente en la industria alimentaria son: secado, germinación, microondas, fermentación en estado sólido y extrusión (Fellows, 2000). La extrusión transforma las materias primas agrícolas en productos alimenticios cocidos, haciéndolos listos para el consumo y muy estables durante el almacenamiento, con mejores características de textura y sabor, consecuencia de la aplicación de altas temperaturas y altas presiones durante un corto período de tiempo (Levien y col, 2016).

La comprensión de las propiedades fisicoquímicas y los comportamientos teológicos durante la extrusión es el factor clave en el diseño de productos alimenticios extruidos. Los alimentos generados a partir del proceso de extrusión, poseen una amplia aceptación en la mayoría de los consumidores. Una manera de mejorar el contenido nutrimental, es la utilización para su elaboración de materias primas que posean compuestos benéficos a la salud. La adición de estas materias primas, pudiera contribuir en la reducción del déficit nutrimental que presentan actualmente estos alimentos (Delgado-Licon y col., 2009).

### III REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### A FRIJOL TÉPARI (*Phaseolus acutifolius*)

##### 1. Origen

La palabra tépari se originó de las palabras de Papago *state* y *pave*, teniendo como significado la palabra *state* blanco y *pave* hace referencia al tipo de planta para distinguirlo del grano (Freeman, 1913). El frijol tépari es también conocido como yori mui, pavi, y Texas bean. La principal área de distribución, y probablemente de origen, de *P. acutifolius* es el desierto sonorense de Norte América (Jiménez y Acosta, 2012).

La presencia de frijol tépari tanto en forma domesticada como formas silvestres en el desierto de Sonora supone a esta zona como su centro de diversidad y centro de origen. Sin embargo, la evidencia arqueológica existente en el suroeste de Estados Unidos no soporta los argumentos para plantear la domesticación temprana de frijol tépari en el área. La presencia de frijol tépari en excavaciones de cavernas desde hace 5,000 años en el área de Tehuacán, dan evidencias arqueológicas para mencionar que los sitios de domesticación de frijol tépari son los valles semiáridos por sombra de agua del sur de México; también se ha reportado evidencia de la zona del altiplano de Jalisco, como candidato para la primera domesticación del frijol tépari (Orduño, 2008).

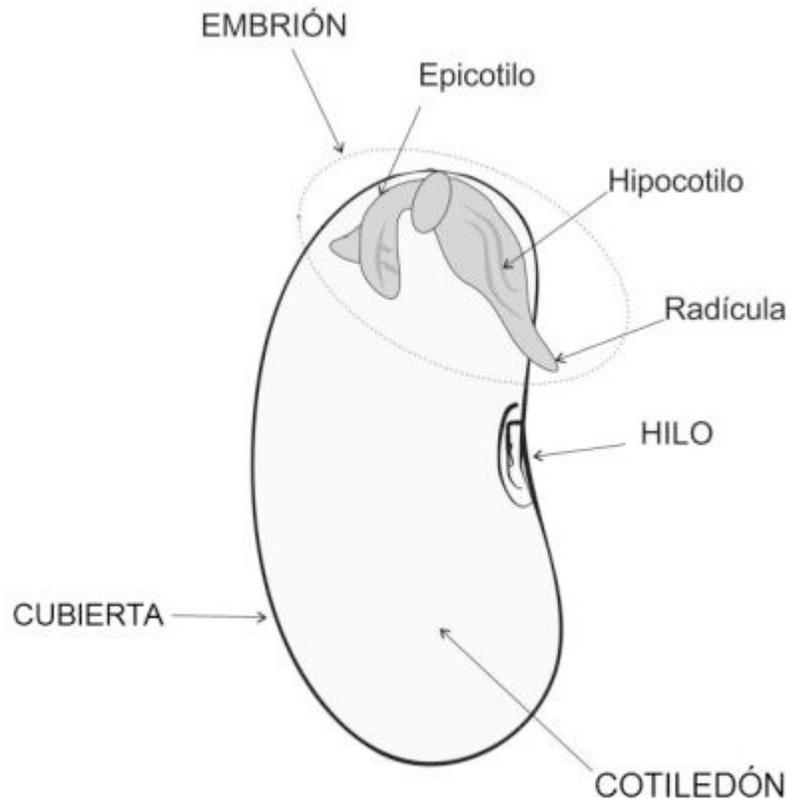
##### 2. Taxonomía y aspectos agronómicos

El frijol tépari es una planta de enredaderas anuales delicadas, de cuatro metros de longitud aproximadamente, con raíz típica, foliolos laminares principalmente angostos y alargados. Posee inflorescencias cortas, con pocas flores, bractéolas cortas de 1-3 mm de largo, estigma lateral introrso, carpelo con suturas pronunciadas y

generalmente cubiertas con tricomas uncinados distintivos. El color de las flores va de violeta a blanco de 15-20 mm de longitud, las vainas son rectas o ligeramente curvadas, generalmente redondeadas y algunas veces aplanadas de 7.3-10 cm de largo y 10.5-13 mm de ancho. Las semillas de tonalidad oscura y colores que varían del negro al rojo, de formas angulares y redondeadas o completamente planas, pequeñas de 5-7 mm de largo, 3.5-7.5 mm de ancho y 2.5-5.5 mm en grosor (Orduño, 2008) (**Figura 1**).

La planta de frijol tépari posee un ciclo de producción muy corto y es más tolerante al calor que el frijol común, y produce grano de alta calidad, proteína adecuada a la nutrición humana y posee resistencia al tizón común (*Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*). Sin embargo, la mayor parte de la diversidad disponible en la forma silvestre y variedades criollas de esas especies permanece sin utilizarse debido a un efecto de ‘cuello de botella’ ocurrido durante el proceso de domesticación a partir de un reducido número de poblaciones silvestres. Existe mayor diversidad en la forma silvestre de ambas especies. En particular, la diversidad disponible en el frijol tépari cultivado, es muy baja (Jiménez y Acosta, 2012).

Las variedades silvestres de frijol tépari se encuentran creciendo en cañones, bancos de arena y pie de colinas, en el desierto y aéreas secas del Suroeste de Estados Unidos y Noroeste de México. Además, su distribución se extiende hacia el sur, a través del área central seca del altiplano de México hasta el centro de Chiapas y Guatemala (Orduño, 2008).



**Figura 1.** Estructura de la semilla de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*).

Esta variedad de frijol ha mostrado una alta resistencia al medio ambiente y se ha adaptado para sobrevivir en las regiones áridas y semiáridas del mundo. Algunos genotipos de frijol tépari son resistentes al ataque de varios patógenos y microorganismos que normalmente afectan al frijol común (Reynoso-Camacho y col., 2003).

### **3. Producción e importancia económica**

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*), nativo de las tierras secas del suroeste de los Estados Unidos y el noroeste de México, es un cultivo particularmente atractivo para los agricultores debido a su alta adaptabilidad a las altas temperaturas y ambientes de baja humedad. Estas cualidades lo hacen mejor que el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) para crecer en zonas áridas y semiáridas. Su alta tolerancia a la sequía podría representar importantes beneficios económicos para los agricultores. Además, este excelente cultivo alternativo tiene un ciclo de crecimiento corto en tierras semiáridas y representa una fuente inagotable de material genético para los mejoradores de frijoles interesados en aumentar la tolerancia a la sequía, el calor y la sal de los cultivares de frijol ampliamente adaptados (González de Mejía y col., 2003).

En cuanto a la producción de frijol tépari, al ser un cultivo de traspatio no se cuenta con estadísticas de su producción a nivel mundial, sin embargo, se ha reportado que el frijol tépari silvestre tiene una producción de 1,600 Kg/ha correspondientes al ciclo otoño-invierno. En cuanto al frijol tépari domesticado, se ha obtenido una producción de 2,020 Kg/ha en el desierto de Sonora, y si se tienen condiciones climáticas menos extremas, su producción aumenta en un 130% hasta llegar a 4,630 Kg/ha (Nebhan,

1978). Jiménez-Galindo y col (2013) evaluaron el rendimiento del frijol tépari domesticado en el estado de Chihuahua, encontrando un rendimiento bajo condiciones de sequía y riego de 1,070 kg/ha y 2,237 kg/ha respectivamente. Desafortunadamente no existe un historial de la producción de este grano, que permita observar cuál es su tendencia actual de producción.

#### **4. Composición química**

La composición química de las leguminosas varía según la especie de la planta, las condiciones de crecimiento, las áreas geográficas y la etapa de maduración de la semilla. Los frijoles tépari son cultivos alimenticios potenciales para muchas áreas áridas y semiáridas del mundo. Su consumo está destinado para alimentos humanos y alimentos para animales. Una mejor comprensión de las propiedades de las proteínas del frijol tépari y su evaluación nutricional podría conducir a un uso más amplio de esta leguminosa en la industria alimentaria (Idouraine, 1993) (**Cuadro 1**).

##### **a. Proteínas**

Los niveles de proteína del frijol tépari oscila entre 13.0 y 32.2%, y los valores informados más comúnmente varían de 22.0-24.0% (Scheerens y col., 1983). Idouraine y col., (1993) informaron sobre 14 muestras de frijoles tépari blancos, marrones, moteados y negros recolectados en varios lugares, mostrando un contenido de proteína que oscilaba entre 17 y 23% con un promedio de 17.8 a

**Cuadro 1.** Composición química de frijol tépari

<b>Componente (% , bs)<sup>1</sup></b>	<b>Harina de frijol Tépari crudo</b>
Proteína	18.76 ± 0.23
Lípidos	1.77 ± 0.22
Minerales	3.76 ± 0.23
Carbohidratos <sup>2</sup>	56.15 ± 3.41
Fibra dietaria insoluble	9.23 ± 1.50
Fibra dietaria soluble	0.5704 ± 0.05

<sup>1</sup>Media ± DS de tres determinaciones.

<sup>2</sup>Calculado por diferencia.

Salas-López, 2015.

## **b. Lípidos**

El contenido de lípidos del frijol tépari es de 1.4 a 1.9%, y depende de la variedad, clima, localización, condiciones ambientales y tipo de tierra en que crece. Los lípidos de este tipo de leguminosa poseen una gran variedad de ácidos grasos, de los cuales el 33.4% son saturados y 66.6% insaturados (monoinsaturados 24.2% y poliinsaturados 42.3%) (Bhardwaj y Hamama, 2005).

## **c. Carbohidratos**

Los carbohidratos de las leguminosas incluyen almidón, fibra dietética, mono y oligosacáridos, y otros polisacáridos, representando del 24 al 68% de la semilla Kadam y col., 1989; Pak y col., 1990). El contenido de carbohidratos en el frijol tépari blanco es 66.8%, en tépari café 65.86%, tépari pinto 66.99% y tépari negro 65.29% en peso seco, incluyendo almidón y otros carbohidratos (Idouraine y col, 1989). Se encuentran oligosacáridos de la familia de la Rafinosa (Rafinosa, Estaquiosa y Verbascosa) cuyo contenido varía de 2 a 6%. Otros carbohidratos del frijol son pectinas, arabinogalactanas y xiloglucanas (Sathe y col.,1985).

## **d. Vitaminas y Minerales**

El frijol tépari es una buena fuente de minerales tales como Ca (126-446 mg/100g), Fe (195.6 mg/100g), P (60-432 mg/100g), K (1501-1608 mg/100g), Mg (95-281 mg/100g) y S (260-410 mg/100g). El K contribuye con el 25 a 30% del contenido total de minerales en la semilla, así mismo, contienen una cantidad importante de P que está presente como ácido fítico; además posee el doble de Fe que el frijol común (Bhardwaj y Hamama, 2004). Se ha demostrado que las leguminosas son una rica

fuentes de vitaminas y aportan a la dieta cantidades considerables de Ácido fólico, Tiamina, Riboflavina y Niacina (Salunkhe y col., 1985).

#### **e. Fibra**

Las leguminosas contienen una cantidad significativa de fibra dietética. Se han informado valores de 0.9 a 5.8% y de 11.0 a 32.0% para fibra dietética soluble e insoluble, respectivamente (Kadam y col., 1989; Pak y col., 1990). El contenido de fibra de frijol tépari es de 5.80-7.14% con un promedio de 6.45% (Idouraine y col., 1995). Las semillas de las leguminosas presentan contenidos de fibra dietaria total que varían entre el 14 y 19%, el cual es mayor que el encontrado en otros granos como los cereales. Debido a estos valores, el frijol es considerado como una fuente de fibra dietaria (Pak y col., 1990).

### **5. Valor nutricional**

#### **a. Aminoácidos esenciales**

Típicamente, son de 20-24 los tipos de aminoácidos que se encuentran presentes en las proteínas alimentarias. El cuerpo humano adulto es capaz de sintetizar todos menos 8 de estos constituyentes (denominados aminoácidos esenciales), que deben obtenerse de la dieta. Como el cuerpo no tiene un método eficaz para almacenar aminoácidos esenciales, una fuente de alimentación relativamente constante de los 8 debe estar presente en cantidades equilibradas para el crecimiento adecuado y el mantenimiento de los tejidos corporales. Por lo tanto, la calidad de cualquier proteína de alimentos solo es tan buena como su equilibrio de aminoácidos esenciales lo sea (Sheerens y col., 1983).

Una característica importante en el frijol tépari es su contenido alto de Lisina (7.7 g/100 g de proteína en tépari salvaje - 6.9 g/100 g de proteína en tépari domesticado), Leucina (9.6 g/100 g de proteína en tépari salvaje – 8.6 g/100 g de proteína en tépari domesticado) y de aminoácidos aromáticos (Fenilalanina y Tirosina 10.2 g/100 g de proteína en tépari salvaje – 8.8 g/100 g de proteína en tépari domesticado). Aunque las proteínas de las leguminosas son deficientes en aminoácidos azufrados (Met+Cys) y triptófano, el frijol tépari mantiene valores mayores en aminoácidos azufrados (2.43 g de AAE/100g de proteína) de la recomendación de la FAO (2013) (2.3 g/100g de proteína), de igual manera para el triptófano. Así mismo su valor biológico mejora cuando se complementa con proteínas como maíz o arroz (deficientes en Lys pero ricos en Met+Cys), incrementando el valor de la proteína ingerida (Sheerens y col., 1983; Salas-López, 2015) (**Cuadro 2**).

#### b. **Digestibilidad proteínica**

Además de consideraciones de cantidad y calidad de proteínas de frijol, también se debe considerar la digestibilidad de este nutriente al evaluar el impacto nutricional del consumo de leguminosas. El porcentaje de estimaciones de digestibilidad de proteínas para las leguminosas oscila entre 52 – 92% y de 34 -92%. Los niveles bajos de digestibilidad de proteínas asociadas con ciertas leguminosas pueden ser causados por una variedad de factores, individualmente o en conjunto. Estos factores incluyen: el efecto de la digestión incompleta de almidón o de

**Cuadro 2.** Contenido de aminoácidos esenciales presentes en frijol tépari y común

<b>Aminoácidos</b>	<b>FAO<sup>1</sup></b>	<b>Frijol común</b>	<b>Frijol tépari</b>
Histidina	1.6	-	2.4
Isoleucina	3.0	4.5	4.0
Leucina	6.1	7.5	6.9
Lisina	4.8	7.0	6.4
Treonina	2.5	5.5	4.1
Triptófano	0.6	0.6	1.1
Valina	4.0	6.5	4.7
Aminoácidos sulfurados	2.3	2.0	2.4
Fenilalanina + Tirosina	4.1	6.5	8.4

<sup>1</sup> Requerimientos para niños mayores de 3 años y adultos. (FAO/WHO 2013; Sheerens y col, 1983; Salas y col., 2018).

carbohidratos, la presencia de factores antinutrimientales que inhiben la función de las enzimas del tracto digestivo, o la absorción intestinal, los efectos del procesamiento o preparación y la posible existencia de conjugados proteicos que resisten la digestión (Sheerens y col., 1983).

### **c. Ácidos grasos esenciales**

Los contenidos de grasa cruda para las leguminosas de grano son bajos (típicamente 1-2% del peso de la semilla), y pueden contribuir significativamente al valor nutritivo de estos alimentos, solamente como portadores de vitaminas liposolubles. Los ácidos grasos en leguminosas contienen una alta proporción de componentes poliinsaturados, algunos de los cuales son esenciales para la dieta humana (Sheerens y col., 1983). Los lípidos de este tipo de leguminosa tienen una gran variedad de ácidos grasos de los cuales el 33.4% son saturados y 66.6% insaturados (monoinsaturados 24.2%, poliinsaturados 42.3%) (Bhardwaj y Hamama, 2005).

## **6. Fitoquímicos en frijol tépari**

Además de los componentes mayoritarios como proteínas, carbohidratos y fibra, las leguminosas contienen numerosos compuestos bioactivos, presentes en pequeñas cantidades, pero que pueden tener efectos metabólicos y fisiológicos de interés (Champ, 2002). El interés por el estudio de las leguminosas ha aumentado, sobre todo en la última década, debido a su contenido de fitoquímicos, metabolitos secundarios biológicamente activos sintetizados por las plantas (Anderson y col., 1999). El frijol común contiene metabolitos secundarios como taninos, antocianinas, compuestos

fenólicos y fibra entre otros que exhiben actividad antioxidante y juegan un papel importante en la prevención y el tratamiento de ciertas enfermedades, como las crónico-degenerativas (Reynoso-Camacho y col., 2006).

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático, se consideran importantes antioxidantes en la dieta ya que se encuentran presentes en frutas, hortalizas, leguminosas y cereales. Los compuestos fenólicos juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y los depredadores. Ellos son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos, por ejemplo, la astringencia de frutas y hortalizas (Peñarrieta y col., 2014).

Actualmente, los compuestos fenólicos tienen importancia como compuestos bioactivos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas, anticancerígenas, antibacterianas, etc., y por su capacidad para modificar las funciones de algunas enzimas celulares clave. De todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza, y dentro de ellos, los flavonoles son lo que poseen mayor actividad antioxidante (Sarmiento, 2012).

Las semillas de frijol contienen diferentes compuestos fenólicos, contenidos principalmente en la testa; su color está determinado por la presencia y concentración de polifenoles como lo son flavonoides glicosilados, taninos condensados y antocianinas. El frijol se considera una buena fuente de compuestos fenólicos en la dieta, tomando en cuenta que es un alimento de costo accesible y que se mantiene incorporado a los hábitos tradicionales de alimentación (López-Cobo y col., 2014).

El grupo de flavonoides de mayor distribución en frijol incluyen proantocianidinas. La presencia de antocianinas se ha reportado sobre todo en frijoles de colores negro y azul-violeta. Recientemente diversas clases de frijol se diferenciaron por la presencia de tres antocianinas (delfinidina, petunidina y malvidina) en frijoles negros; kaempferol en pintos (incluyendo Othello); y quercetina y kaempferol en frijol rosa; los flavonoides se detectaron en menor cantidad en frijol blanco (Heimler y col., 2005).

Salas-López y col (2015) reportaron un contenido de compuestos fenólicos en frijol tépari crudo y germinado de 107 y 355 mg EAG/100 g muestra, respectivamente, así mismo, un contenido de flavonoides y taninos condensados en tépari crudo de 84 mg EQ/100 g muestra y 370 mg ECA/100 g, muestra. Existen variaciones en el contenido de taninos de acuerdo a la variedad del frijol, pero también cabe destacar que los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, por lo que su presencia se ve afectada por las condiciones ambientales e incluso dentro de una misma variedad (Sánchez y col., 2014; Aparicio-Fernández y col., 2006).

## **7. Propiedades nutraceuticas**

Se ha reportado al frijol como alimento nutraceutico, por el papel que algunos de sus componentes (compuestos fenólicos, fibra dietaria, ácidos grasos esenciales, etc.) desempeñan en beneficio de la salud. La presencia de compuestos fenólicos en la dieta se relaciona con la disminución del riesgo de desarrollar ciertas enfermedades; entre estas se encuentran canceres pancreáticos, de mama y de colon y enfermedades coronarias e inflamatorias. Lo anterior se debe en gran parte a su actividad antioxidante. Los efectos benéficos atribuidos a los compuestos fenólicos

acentúan la importancia de las leguminosas como potenciales alimentos funcionales (Bravo, 1998).

García-Gasca y col (2001) evaluaron el efecto antiproliferativo de una fracción proteica de semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) con actividad inhibidora de proteasa (AIP), en células normales y malignas, los resultados mostraron que la fracción proteica de semillas de frijol tépari con AIP, afectó diferencialmente la proliferación celular y la supervivencia celular de las células normales y transformadas. También se muestra que AIP afectó a los patrones de adhesión celular de fibroblastos transformados poco adherentes. Ambos efectos, la citotoxicidad y el aumento de la adhesión celular, representan una nueva alternativa en el uso de proteínas para disminuir o prevenir el desarrollo de malignidad.

Se ha reportado que las lectinas activan el sistema inmune mediante la proliferación de linfocitos T y que estimulan la diferenciación de células de cáncer de colon, Reynoso-Camacho y col (2003) evaluar la toxicidad aguda de una lectina extraída y purificada de frijol tépari en ratones, concluyendo que la lectina de frijol tépari tiene una toxicidad relativamente baja, por lo tanto, puede ser utilizado en estudios carcinógenos que potencialmente pueden conducir a la terapia del cáncer.

Así mismo García-Gasca y col (2012) evaluaron las fracciones de lectina de frijol tépari obtenidas por cromatografía de afinidad demostrando actividad mitogénica sobre linfocitos periféricos humanos, así como sobre linfocitos humanos cultivados y un efecto citotóxico diferencial también se observó en diferentes clones de fibroblastos

murinos 3T3, concluyendo que dichas fracciones de lectinas presentaron un efecto citotóxico específico en células cancerosas humanas.

## **8. Factores antinutrimientales**

El término antinutriente o antinutrimiento se utiliza para calificar a aquellos compuestos que afectan el valor nutricional de algunos alimentos, especialmente semillas, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrientes que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal (proteínas y minerales). Desde el punto de vista bioquímico estos factores son de naturaleza variada y pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables como la flatulencia, distensión estomacal, afectaciones pancreáticas, aglutinación de glóbulos rojos, disminución en la asimilación de nutrientes, entre otros. Estos factores afectan negativamente el valor nutritivo del frijol común a través de reacciones directas e indirectas: inhiben la digestibilidad de proteínas y carbohidratos; inducen cambios patológicos en el tejido intestinal y hepático afectando así el metabolismo; inhiben varias enzimas y se unen a nutrientes haciéndolos indisponibles (Bressani, 1993). Sin embargo, cada vez hay más pruebas de que estos componentes antinutrimientales transmiten beneficios para la salud de los seres humanos en virtud de su papel en la prevención de algunas enfermedades; los niveles de aquellos componentes que definen su función nutracéutica o antinutrimiental aún no se han establecido (González de Mejía y col., 2003). Los factores antinutrimientales pueden clasificarse como termo estables y termo lábiles; los factores termo estables incluyen: factores antigénicos, oligosacáridos y aminoácidos no proteicos tóxicos, saponinas, estrógenos, cianógenos, fitatos; siendo los más importantes: los factores antigénicos, los oligosacáridos, las saponinas y los

fitatos. Así mismo, entre los factores termo lábiles se encuentran, los inhibidores de proteasas (tripsina y quimotripsina), lectinas, goitrogenos y antivitaminas; siendo los más importantes los inhibidores de proteasas y las lectinas (Belmar y col., 2000).

#### **a. Lectinas**

Las lectinas pertenecen a un grupo variado de proteínas no inmunes; conocido como hemaglutinas, ampliamente distribuidas en la naturaleza encontrándose en plantas, animales y organismos inferiores (Hernández, 2009). Las lectinas vegetales se presentan en forma de glicoproteínas, su efecto *in vitro* consiste en combinarse con las glicoproteínas de las membranas de los glóbulos rojos las cuales aglutinan o coagulan (de ahí el nombre de fitohemaglutinas). Su acción *in vivo* radica en su alta especificidad para reconocer carbohidratos (Lis y Sharon, 1998); su principal efecto está relacionado con el hecho de que se adhieren a los carbohidratos sobre la superficie del intestino delgado (duodeno y yeyuno) y causan daños en la pared intestinal, afectando los procesos de absorción y transporte de nutrimentos a través de ella (Celis, 2000; Bassan y col., 2002). Se ha demostrado en algunos estudios que el frijol común presenta una actividad de lectinas significativamente mayor (8573 UAH/mg de proteína), que los frijoles tépari. El frijol tépari, presenta un rango de 1301-4665 UAH/mg de proteína en variedades blanco, negro y marrón (González de Mejía y col., 2005).

#### **b. Saponinas**

Las saponinas son compuestos que poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos, son glucósidos que determinan en gran parte el sabor amargo de algunas semillas como la soya cruda y la quinoa sin desaponifica (Buitrago, 1992). Diversos estudios reportan que la presencia de cantidades elevadas de saponinas en granos y semillas pueden modificar los microorganismos en el tracto gastrointestinal, particularmente en los rumiantes así como también causar daño a las células de la mucosa intestinal por la alteración de la permeabilidad de la membrana celular, interfiriendo en el transporte activo y a su vez, con la absorción de nutrimentos (Gee,y col., 1993; Makkar y Becker, 1998).

### **c. Ácido Fítico**

El ácido fítico y sus sales derivadas constituyen la mayor reserva de fósforo y mioinositol de las semillas de cereales y leguminosas. Por lo general representa el 65 a 85% del fósforo total de las semillas (Raboy, 1997). Desde el punto de vista nutricional, el interés del ácido fítico se debe principalmente a su capacidad de formar complejos con minerales esenciales (Cu, Zn, Fe, K, Mg y Ca), lo que disminuye la absorción intestinal y la biodisponibilidad de estos minerales para el hombre y los animales monogástricos; debido a que estos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar los minerales de la estructura del fitato. El ácido fítico es además un compuesto con actividad antinutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas (Zhou y Erdman, 1995), convirtiéndolos en no asimilables por el organismo

bajo condiciones fisiológicas (Bindu y col., 1998). Sin embargo, se ha demostrado que, durante el procesamiento de los alimentos y la digestión, la cantidad final de ácido fítico disminuye significativamente como consecuencia de su hidrólisis enzimática o química (Khan y col., 1988; Zhou y Erdman, 1995; Centeno, 2001).

#### **d. Taninos**

Los taninos son compuestos polifenólicos de un amplio peso molecular que habitualmente se dividen en hidrolizables y condensados. El efecto antinutricional de los taninos está relacionado con su capacidad de unirse a enzimas, proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas, y formar complejos con el hierro del alimento, dificultando la digestión de los nutrientes (De Lange y col., 2000; Smithard, 2002; Caldas y Blair, 2004). Aunque hay diferencias químicas entre ellos, todos son compuestos fenólicos y pueden precipitar la proteína. La capacidad de ligar proteínas por los taninos, se ha considerado como un elemento importante para predecir sus efectos en sistemas biológicos (Oloyo, 2002; Carrilla y Pabon, 2004). Un estudio realizado por González de Mejía y col., (2005) reportó que el contenido de taninos de frijol común Flor de Mayo fue de 2618.8 mg (+) - ECA/100 g, mientras que los niveles en frijoles tépari variaron de 117.6 mg (+) - ECA/100 g a 1041.7 mg (+) - ECA/100 g. Así mismo informaron una menor concentración de taninos en frijoles tépari marrones (600 mg (+) - ECA /100 g).

#### **e. Inhibidores de Tripsina**

Los inhibidores de proteasas son compuestos termo lábiles de naturaleza proteica, que alteran la digestión de las proteínas, inhibiendo la acción de las enzimas digestivas que se

enfocan hacia la hidrólisis de las proteínas de la dieta; los más conocidos son los que reaccionan con proteasas de serina, como la tripsina y la quimotripsina. Los inhibidores de tripsina son los principales inhibidores de proteasas encontrados en los alimentos de origen vegetal y estos tienen su actividad antinutricional relacionada con el mecanismo a través del cual estos inhibidores estimulan la secreción pancreática provocando una hipertrofia pancreática (Liener y Kakade, 1980). Se han reportado niveles de Inhibidores de tripsina en frijol tépari en un rango de 11.5 a 18.02 UIT/mg (González de Mejía y col., 2005).

## **9. Tecnologías para el procesamiento de leguminosas**

Las tecnologías de procesamiento de alimentos presentan un alto potencial para incrementar la calidad nutritiva, biodisponibilidad de nutrientes, palatabilidad, seguridad alimentaria, estabilidad. Entre las tecnologías se encuentran las conocidas como tradicionales las cuales son: rostizado, germinación, molienda, horneado, cocción y secado (Bressani y col, 1984). Otras tecnologías usadas ampliamente en la industria alimentaria son: calentamiento por radio frecuencias, microondas, infrarrojos, perfusión instantánea y de alto calor, calentamiento óhmico, extrusión y fermentación en estado sólido (Fellows, 2000). La extrusión transforma las materias primas agrícolas en productos alimenticios cocidos, haciéndolos listos para el consumo y muy estables durante el almacenamiento, con mejores características de textura y sabor resultantes de la aplicación de altas temperaturas y altas presiones durante un corto período de tiempo (Levien y col, 2016).

### **B. EXTRUSIÓN**

## **1. Generalidades**

La tecnología de extrusión aplicada a alimentos se define como un proceso continuo que combina el corte mecánico y el calor para la gelatinización del almidón y desnaturalización de proteínas, obteniéndose un producto plastificado y reestructurado con nuevas formas y texturas. El extrusor se considera como un reactor de tornillos por las transformaciones físicas, químicas y bioquímicas que ocurren en el material, pudiendo realizar al mismo tiempo funciones de transporte, mezclado, corte, orientación, expansión y formado del material a presión y temperaturas controladas. El procesamiento de alimentos por extrusión para elaborar productos de consumo humano y animal es hoy en día muy empleado, esto debido en parte a la versatilidad de la tecnología de extrusión que es capaz de producir, de manera económica, una amplia variedad de productos (El-Dash, 1983).

El propósito principal de la extrusión es incrementar la variedad de alimentos en la dieta mediante la producción de un rango amplio de productos con diferentes formas, texturas, colores y sabores de ingredientes básicos. El principal método de preservación de alimentos extrudidos en frío y en presencia de calor es la baja actividad de agua del producto. Algunas de las características por las cuales la extrusión ha ganado popularidad son: versatilidad, costos reducidos, alta productividad, productos de alta calidad, diferentes formas del producto, eficiencia energética, generación de nuevos productos y ausencia de efluentes (Fellows, 1990).

## **2. Tipos de extrusores**

Los extrusores se pueden categorizar en tres tipos principales: pistón, rodillos y tornillo. Un extrusor está formado de cinco componentes principales: mecanismo de alimentación, tornillo y su mecanismo de conducción, camisa o cañón, dado o restrictor de flujo y mecanismo de corte. Los extrusores de pistón, se utilizan principalmente para dar forma a un material determinado, y consisten de un pistón o una batería de pistones los cuales depositan cantidades muy precisas de material en una banda transportadora. Los extrusores de rodillo, que también son utilizados como dispositivos para dar forma, consisten de dos rodillos contra-rotatorios que giran a velocidades iguales o diferentes y que tienen superficies lisas o perfiladas. Los extrusores de tornillo constan de tornillos sencillos, dobles o múltiples, los que rotan en el interior del cañón estacionario para empujar el material hacia y a través de un orificio de diseño especial, llamado dado (Kokini, 1993).

De forma sencilla, los extrusores pueden ser clasificados como: húmedos o secos, y a su vez de acuerdo al tipo de construcción: extrusores de tornillo simple y de doble hélice (tornillos gemelos).

El tamaño y la forma de los extrudidos y la eficacia del funcionamiento del extrusor son interdependientes de los parámetros operacionales como la temperatura, la presión y velocidad de tornillo. El tiempo de residencia en la extrusión juega un papel importante en el rendimiento del producto, puede ser controlado por la velocidad de tornillo (Sundarrajan, 2014).

### **3. Componentes de un extrusor**

La extrusión-cocción es un proceso que involucra varias operaciones unitarias que incluyen el mezclado, cocimiento, corte y moldeado. Un extrusor consta básicamente de una tolva alimentadora, que permite proporcionar un flujo uniforme y constante a la entrada del equipo. El tornillo o rotor es la parte central del extrusor que ejecuta las operaciones de mezclado, amasado, corte, cocimiento y transporte del material que se lleva a cabo dentro del cañón o cilindro, y por último la boquilla que le da forma al producto final. Los extrusores de alimentos se pueden visualizar como equipos que pueden transformar una diversidad de ingredientes crudos en productos intermedios y finalizados. Todos los extrusores consisten de uno o dos tornillos que transportan los ingredientes premezclados a través del cilindro **(Figura 2)**.

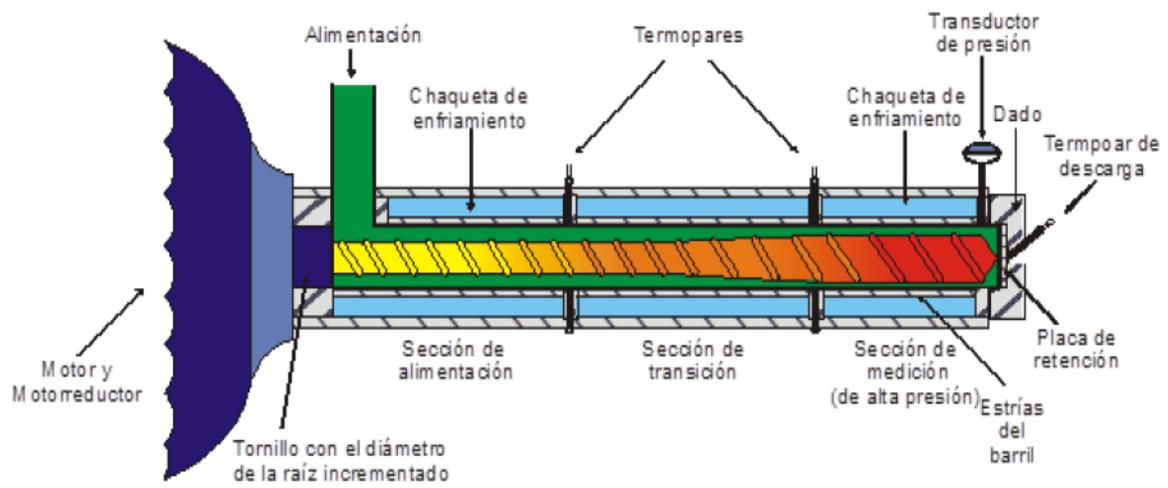
#### **4. Factores que afectan el proceso de extrusión**

Fellows (2000) señala que existen dos factores principales que influyen en las características de los productos extrudidos: las características de las materias primas y las condiciones operativas del extrusor. Como principales características de la materia prima puede ser el siguiente: tipo de material, contenido de humedad, el estado físico, la composición química (cantidad y tipo de almidón, proteínas, grasas y azúcares) y el pH del material. Los parámetros de funcionamiento que pueden ser señalados como importantes son: temperatura, presión, diámetro del dado y fuerza de corte, con este último siendo influenciado por el diseño interno de la extrusora y por su longitud, así como la geometría del tornillo y velocidad de rotación.

#### **5. Efecto de la extrusión sobre composición química de leguminosas**

La calidad de los productos obtenidos sometidos a extrusión depende de las condiciones de operación del extrusor y de las propiedades reológicas de los ingredientes. Los estudios realizados para comprender los efectos sobre los antinutrientes de frijol en el proceso de extrusión son pocos; sin embargo, se han hecho estudios contrastando la extrusión y diferentes métodos del procesamiento de frijol común pinto. Los resultados indican que el proceso de extrusión es un método efectivo en la reducción de taninos, hemaglutininas e inhibidores de tripsina y de  $\alpha$ -amilasa (Alonso y col, 2000).

El valor nutricional en proteína vegetal por lo general se incrementa por una extrusión en condiciones de cocción suaves, debido a un aumento de la digestibilidad, cuya causa posible podría ser la desnaturalización de proteínas, la cual expone los puntos activos a las enzimas digestivas e inactiva los factores



**Figura 2.** Componentes principales de un extrusor (Gómez, 2013).

antinutrientales que afectan la digestión; sobre todo inhibidores de tripsina, hemaglutininas, taninos y fitatos, los cuales reducen la digestibilidad de la proteína, lo anterior representa una ventaja de la cocción por extrusión.

Temperaturas altas de extrusión, tiempo de residencia largos y bajo contenido de humedad de alimentación, son las variables claves para la destrucción de los inhibidores de tripsina. Además, la cocción por extrusión es más eficaz en reducir o eliminar la actividad de lectinas comparado con el tratamiento térmico acuoso tradicional. La extrusión incluye la aplicación de tratamientos térmicos, presiones altas y fuerza de cizalla en el alimento. Este tratamiento termomecánico induce algunos cambios en la molécula de almidón, como la fusión de cristales, rompimiento de gránulos y disrupción molecular de amilopectina. El grado de degradación macromolecular es función de los parámetros de extrusión: temperatura, humedad del alimento, tipo de almidón y velocidad del tornillo dentro del extrusor; a su vez, el número de enlaces hidrolizados incrementa con el aumento de la temperatura de extrusión y la disminución de la humedad inicial en el alimento (Davison y col, 1984).

## **6. Efecto de la extrusión sobre el valor nutricional de leguminosas**

La comprensión de las propiedades fisicoquímicas y los comportamientos teológicos durante la extrusión es el factor clave en el diseño de productos alimenticios extruidos. El uso de la tecnología de extrusión y la formulación apropiada de los ingredientes puede proporcionar productos de frijol común pre-cocido o de cocción

rápida. Las harinas de fécula de alto almidón producidas a partir de frijol pinto y negro producen buenas propiedades de expansión durante la extrusión.

Elías y col., (2010) encontraron las condiciones óptimas de procesamiento para el proceso de cocción por extrusión, en lo que respecta a las propiedades funcionales y nutricionales. El PER, la digestibilidad verdadera, el índice de absorción de agua y el índice de solubilidad en agua fueron mayores, y la actividad del inhibidor de tripsina y la lisina disponible fueron menores para los frijoles extrudidos en comparación con los frijoles cocinados en la autoclave. La harina de frijol extrudida, con características nutricionales y tecnológicas mejoradas, se puede utilizar en una variedad de productos a base de frijol o en mezcla con otros alimentos para mejorar las propiedades funcionales y la calidad nutricional. Se están desarrollando prototipos prometedores de granos de frijol cocidos y extrudidos, de alta densidad que fácilmente se hidratan y ablandan cuando se reconstituyen.

## **7. Efecto de la extrusión sobre perfiles y niveles de fitoquímicos en leguminosas**

Diversos autores han observado que el contenido de humedad y la temperatura causan una disminución significativa en el contenido de fenólicos totales. Los compuestos fenólicos durante la extrusión pueden ser sometidos a descarboxilación debido a temperaturas altas de extrusión y contenidos de humedad altos lo que provoca la polimerización de fenoles y taninos, esto reduce la extracción y la capacidad antioxidante (Yagci y Gous 2010).

Algunas variables del proceso de extrusión pueden influir en la composición de los productos extrudidos. Estos incluyen las características de las materias primas, mezcla y acondicionamiento de las materias primas, velocidad de tornillo, contenido de humedad, entre otras. Estas condiciones tienen la capacidad de producir influencias tanto positivas o negativas en los compuestos bioactivos de los productos extrudidos. Varios estudios han demostrado que el proceso de extrusión reduce significativamente mensurables compuestos bioactivos en los productos alimenticios. Korus y col, (2007) investigaron el efecto de la extrusión sobre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en frijol común, observando disminuciones significativas tanto en actividad antioxidante como en compuestos fenólicos totales. En algunas instancias se ha reportado que la AAox se incrementa en productos extrudidos al compararse con granos sin procesar; además se ha reportado que AAox se incrementa al aumentar la temperatura de extrusión (TE).

#### **8. Efecto de la extrusión sobre propiedades nutraceuticas de leguminosas**

Los alimentos generados a partir del proceso de extrusión, poseen una amplia aceptación en la mayoría de los consumidores. Una manera de mejorar el contenido nutrimental, es la utilización para su elaboración de materias primas que posean compuestos benéficos a la salud. La adición de estas materias primas, pudiera contribuir en la reducción del déficit nutrimental que presentan actualmente estos alimentos.

Delgado-Licon y col. (2009) evaluaron la influencia del proceso de extrusión sobre compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de mezclas frijol y maíz. La extrusión

se llevó a cabo usando diferentes condiciones de humedad y temperatura. El mejor procedimiento de extrusión se logró utilizando contenidos de humedad, temperatura de extrusión y velocidad de tornillo de 16.3%, 142°C y 90 rpm, respectivamente, lo que resultó en un mayor contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante.

Rochin-Medina y col. (2015) determinaron la mejor combinación de variables de los procesos de extrusión para producir harinas de maíz y garbanzo integrales extrudidos para preparar una mezcla (proporción 60%:40%, respectivamente) con actividad antioxidante alta adecuada para producir una bebida funcional. La mezcla óptima presentó una actividad antioxidante alta y una mejora en la relación de eficiencia proteínica calculada. Una Porción de 200 mL de la bebida preparada con la mezcla óptima contribuyó con 40-66% de las recomendaciones diarias de la ingesta de antioxidantes y puede utilizarse como alternativa a bebidas con valor nutricional/nutracéutico bajo.

### **Uso de frijol para la elaboración de productos**

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) es una leguminosa desértica anual de ciclo corto altamente tolerante al calor y a la sequía, produce semillas nutritivas y de alta proteína que son adecuadas para el consumo humano. El frijol tépari tiene el potencial de ayudar en los esfuerzos de diversificación de cultivos y asegurar la disponibilidad de granos de alimentos en áreas donde la sequía es una ocurrencia común. Las concentraciones altas de Fe, P y K en frijol tépari, comparada con la del frijol común, puede ser de gran utilidad para contrarrestar el déficit de estos minerales en la población, además del completo perfil de aminoácidos esenciales presentes. Por lo que el frijol tépari podría ser adecuado para la producción comercial de alimentos para consumo humano.

El procesamiento de extrusión se ha sugerido por sus múltiples ventajas para mejorar la calidad nutricional/nutracéutica de las leguminosas. Su efecto permite mejorar el contenido de compuestos bioactivos, actividad antioxidante y la biodisponibilidad de nutrimentos de los granos, además que se ha reportado una reducción de los factores antinutrimientales en frijol.

No existen reportes en la literatura donde el proceso de extrusión haya sido optimizado para obtener una harina a base de frijol tépari con valor nutricional, actividad antioxidante y digestibilidad proteínica alto.

## V. HIPÓTESIS

La aplicación de la tecnología de extrusión en semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*), en condiciones óptimas (temperatura de extrusión, velocidad de tornillo), permite la obtención de una harina funcional con actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y digestibilidad proteínica in vitro altos.

## **VI. OBJETIVOS**

### **A. OBJETIVO GENERAL**

Establecer el efecto del proceso optimizado de extrusión en semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) en el perfil de fenólicos, capacidad antioxidante y digestibilidad proteínica *in vitro* para obtener harinas funcionales con valor nutricional/nutracéutico alto.

### **B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Contrastar el efecto de las harinas con diferentes tratamientos aplicados (crudo, extrudido) en cuanto a su contenido de compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante y digestibilidad proteínica *in vitro*.
2. Encontrar la mejor combinación de temperatura de extrusión/velocidad de tornillo para obtener harina funcional de frijol tépari a partir de frijol tépari crudo.
3. Evaluar composición química, características fisicoquímicas, funcionales y nutricionales de las 2 diferentes harinas de frijol tépari (crudo, extrudido).

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. MATERIALES

Para el desarrollo del experimento se utilizarán semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*), adquiridas en el INIFAP de Ciudad Obregón, Sonora, México. El grano, seco y limpio, se almacenó en recipientes herméticos, en refrigeración (5-10°C) hasta su utilización.

### B. MÉTODOS

#### 1. Características físicas del grano

##### a. Dimensiones físicas

Se midió la longitud, anchura y grosor, utilizando un vernier (calibrador) Scala modelo UNOX (Metro Méx, S.A. México, DF). Las mediciones se realizaron en 25 semillas de frijol tépari seleccionadas al azar. La determinación se realizó por duplicado (Milán-Carrillo y col 2000).

##### b. Peso de 1,000 granos

Este parámetro se determinó pesando 1,000 granos tomados al azar de un lote de semillas limpias, en una balanza OHAUS (Mod TP2KS, Seedburo Equipment, Co., EUA). La prueba se realizó por triplicado.

##### c. Peso hectolítrico

Para la determinación del peso hectolítrico se usó el procedimiento 55-10 de la AACCC (1995) utilizando una microescala. Un recipiente de volumen conocido (1L) se llenó de granos y se pesó en una balanza analítica. El peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un

volumen de 100 L (kg/hL). Esta característica física se determinó mediante 10 repeticiones.

#### **d. Calibre**

Se define como el número de granos en 30 g de muestra. Se determinó en una balanza OHAUS (Mod TP2KS, Seedburo Equipment, Co., EUA). Se reportó el promedio de cinco repeticiones (Reyes-Moreno y col. 2000).

## **2. Propiedades fisicoquímicas de los granos**

### **a. Diferencia total de color ( $\Delta E$ )**

Se utilizó la metodología reportada por Reyes-Moreno y col (2003). El color de las muestras se determinó utilizando un colorímetro Minolta Chroma-meter mod CR-210 (Minolta LTD, Japón). La determinación de color se basa en el efecto triestímulo, donde  $\underline{L}$  mide la brillantez y varía de 100 para un blanco perfecto a cero para negro. Las dimensiones de cromaticidad son dadas por los parámetros  $\underline{a}$  y  $\underline{b}$ . El valor positivo de  $\underline{a}$  está asociado al color rojo y el negativo al verde. El valor positivo de  $\underline{b}$  está asociado al color amarillo y el negativo con el azul. Para la evaluación del color se utilizaron aproximadamente 100 g de muestra, la cual se colocó en una tapa de caja petri de vidrio Kimax de 15 cm de diámetro y se midieron los parámetros correspondientes  $\underline{L}$ ,  $\underline{a}$  y  $\underline{b}$ . Se utilizó un mosaico blanco como referencia (estándar) de valores de  $\underline{L}$ ,  $\underline{a}$  y  $\underline{b}$  conocidos ( $\underline{L}$ =97.63,  $\underline{a}$ =-0.78 y  $\underline{b}$ =2.85). La diferencia total de color ( $\Delta E$ ) de la muestra se calculó con la ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Donde:

$\Delta E$  = Diferencia total de color entre el estándar y la muestra

$\Delta L$ ,  $\Delta a$  y  $\Delta b$  = Diferencias absolutas de los valores de  $L$ ,  $a$  y  $b$  del estándar utilizado y los valores correspondientes observados de la muestra.

#### **b. Actividad acuosa ( $a_w$ )**

Para su determinación se utilizó un equipo marca Aqualab mod CX2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA). Una muestra de aproximadamente 2 g se colocó en la celda portamuestras del equipo hasta alcanzar el equilibrio (40-60 min. Las mediciones se realizarán por triplicado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (Milán-Carrillo y col 2002).

#### **c. pH**

El pH se determinó de acuerdo a la AOAC (1999). A 10 g de muestra se le agregaron 100 mL de agua destilada hervida y enfriada; la suspensión se agitó en un agitador orbital por 10 min a 240 rpm, después se medirá el pH de la suspensión. Las mediciones se realizarán por triplicado.

### **3. Características químicas del grano**

Se determinó, de acuerdo a los métodos oficiales de AOAC (1999), proteína cruda, grasa cruda y cenizas a granos crudos de frijol tépari y a harinas de frijol extrudidas que serán generadas por el diseño experimental y a las harinas de frijol tépari extrudida optimizadas.

#### **a. Humedad**

Se determinó humedad de las muestras aplicando el método 44.15 de la AOAC (1999). Se calculó la pérdida de peso de 2 g de muestra, después de calentar a 70°C durante 12 h, posteriormente se realiza un aumento de temperatura a 130°C durante 3 h en una estufa de circulación de aire (FELISA mod 142<sup>a</sup>, México).

#### **b. Proteínas**

Se utilizó el método 46.12, microKjeldahl, de la AOAC (1999) para la determinación de nitrógeno en un sistema Kjeltex (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia). Se sometieron a digestión 0.2 g de muestra, con 5 mL de ácido sulfúrico y la mezcla reactiva de selenio (Merck Co., Alemania) a una temperatura de 200°C. En la destilación de la muestra, previamente diluida con 10 mL de agua, se emplearon disoluciones de NaOH al 40% y ácido bórico al 4% con indicador para recibir el destilado. La titulación se llevó a cabo con una disolución valorada de HCl 0.1 N. Posteriormente, la proteína cruda se calculó mediante la multiplicación del contenido de nitrógeno total por el factor 6.25. La prueba se realizó por triplicado.

#### **c. Lípidos**

Se determinó empleando el método 920.39 de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron en muestras de 2 g de harina utilizando un equipo Saxtec System HT 1043 Extraction Unit (Tecator, Suecia) y como disolvente éter de petróleo. La prueba se realizó por triplicado.

#### **d. Minerales**

Se utilizó el método 934.01 de AOAC (1999). Se pesaron 2 g de muestra, la cual se colocó dentro de un crisol de porcelana, y se sometió a incineración en mufla a 550°C hasta peso constante; los crisoles se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron hasta que la muestra calcinada alcance la temperatura de cuarto. La prueba se realizó por triplicado.

#### **e. Fibra dietaria Total**

Se determinó de acuerdo al método oficial 985.29 (AOAC 1999), con ayuda de un kit de análisis de fibra dietaria total (TDF-100A, Sigma). Se realizaron cuatro réplicas de 1 g de muestra cada una, previamente desgrasadas. Las muestras se colocaron en matraces de 500 mL y se le agregaron 50 mL de una solución reguladora fosfato (pH 6) a cada muestra. A cada matraz con la muestra se adicionaron 100 µL de α-amilasa. Las muestras se sometieron a tratamiento térmico (95 °C/20 min. en baño maría marca Precision) en agitación constante. Después de este tiempo, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, y el pH se ajustó a  $7.5 \pm 0.2$  con NaOH 0.275 M. Se adicionaron 100 µL de una solución de proteasa (5 mg proteasa) a cada muestra y se sometieron a 60 °C por 30 min. y posteriormente se enfriaron. Se ajustó el pH 4 - 4.6 con HCl 0.325M, y se adicionaron 100 µL de amiloglucosidasa, las muestras se colocaron a 60 °C por 30 min. Finalmente, las muestras se enfriaron y filtraron (usando filtros Gösh #2, previamente secos con 0.5 g de celita, a peso constante), se hicieron 3 lavados con 20 mL de etanol al 78%, 2 lavados con etanol al 96%, y finalmente uno con acetona pura. El residuo del filtrado se secó en una estufa a 105 °C por 12 h. Esta parte del residuo se denomina fracción insoluble o fibra insoluble (FI). A la solución del filtrado de la fracción insoluble se le adicionaron 250 mL aproximadamente de etanol

al 96% (hasta llegar a un volumen de 350 mL) y se dejó en reposo (12 h/4°C), para posteriormente ser filtrado (usando filtros Gösh #2, previamente secos con 0.5g de celita) y se hicieron lavados de etanol al 78%, 96% y acetona pura. Al residuo de este filtrado se le denomina fracción soluble o fibra soluble (FS). El filtro con el residuo se secó en una estufa a 105°C por 12 h. Se registraron los pesos de la fracción insoluble y soluble; se tomaron dos muestras de cada fracción para cuantificar proteínas y dos para cenizas. El porcentaje de fibra de la fracción insoluble y soluble se calculó de la siguiente manera:

$$\%FI \text{ o } \%FS = \frac{PRF - Proteina - Cenizas}{PMI} \times 100$$

Dónde:

FI= Fibra insoluble

FS=Fibra soluble

PRF=Peso del residuo final

PMI= Peso de muestra inicial

#### **f. Carbohidratos**

El porcentaje de carbohidratos se calculará por la diferencia de 100%, menos la suma de los porcentajes de humedad, proteína cruda, grasa cruda, fibra total y cenizas.

#### **4. Obtención de la harina de frijol tépari extrudido**

Para la obtención de harina de frijol tépari extrudido (HFTE) se utilizó el

procedimiento descrito por Milán-Carrillo (2012) con ligeras modificaciones (**Fig. 3**). Las semillas de frijol tépari escarificadas se molturaron para la obtención de harinas de frijol tépari (HFT). Se envasaron en porciones de 300 g. Las porciones de HFT se humectaron con agua destilada hasta alcanzar un contenido de humedad del 24%. Las HFT humectadas se sometieron a reposo a 4-12°C durante 12 h; una vez transcurrido el reposo se equilibraron a temperatura ambiente (25°C) durante 2 h. éstas porciones de HFT se alimentaron al extrusor.

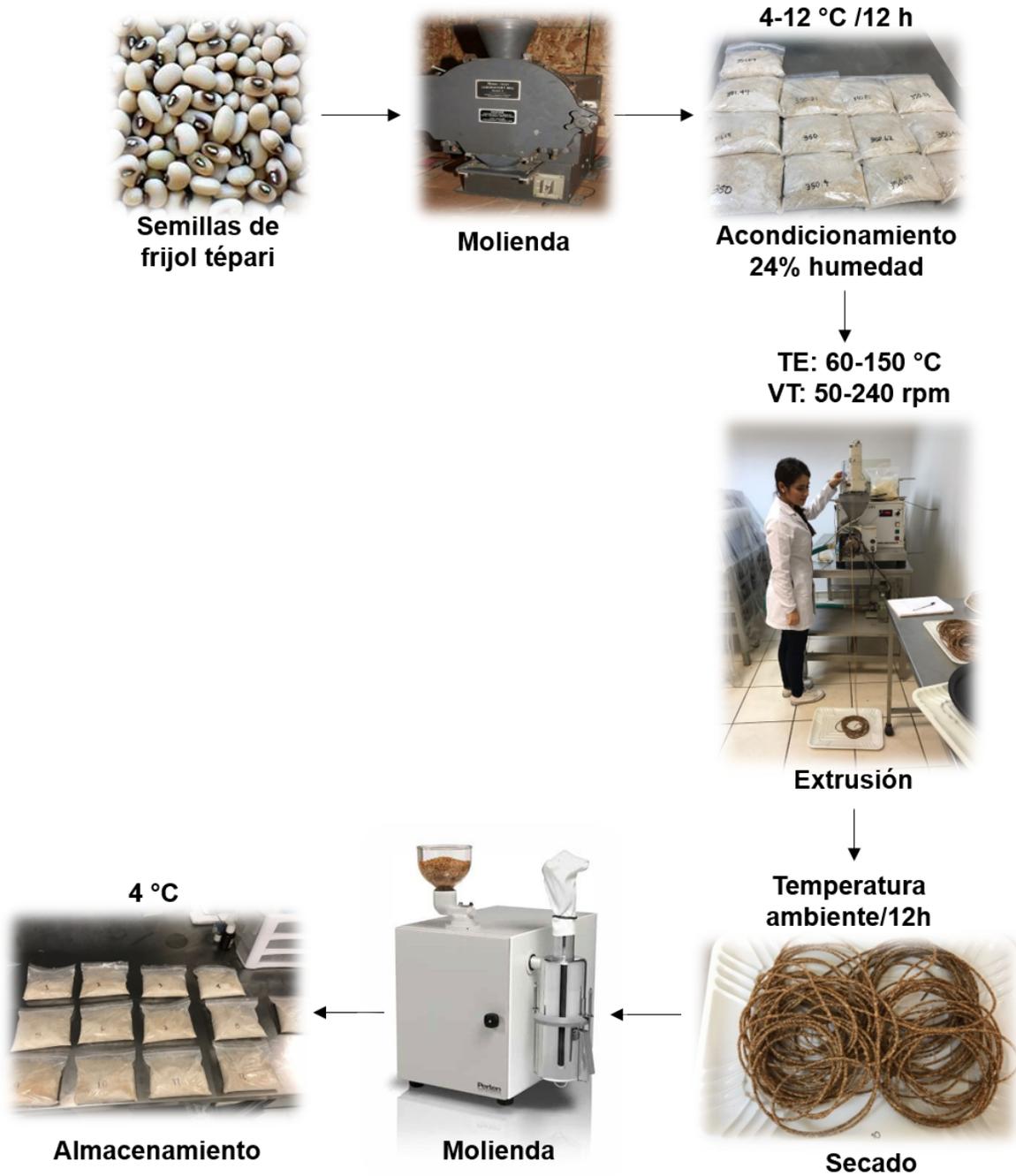
La extrusión se llevó a cabo en un extrusor de tornillo simple, con un diámetro de tornillo de 1.9 mm; relación longitud – diámetro 20:1; relación de compresión 2:1 y dado de salida de 3 mm. Las condiciones de operación del extrusor se derivarán de la combinación factorial de temperatura de extrusión (TE=60-150 °C) y velocidad de tornillo (VT=50-240rpm), los extrudidos se colectaron en charolas de aluminio perforadas y, posteriormente, se enfriaron y secaron a temperatura ambiente durante 12 h. Los extrudidos secos se sometieron a molienda. Las harinas de frijol tépari extrudidas (HFTE) se empacarán en bolsas de polietileno y almacenarán a 4°C hasta su utilización. Para la optimización del proceso de extrusión se seleccionaron como variables de respuesta compuestos fenólicos totales (CFT), Actividad Antioxidante (AAox), y digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV). Las HFTEO se evaluaron para CFT, AAox y DPIV.

## **5. Evaluación de las variables de respuesta en harinas de frijol tépari (HFT)**

### **a. Fitoquímicos y actividad antioxidante**

#### **1) Extracción de fitoquímicos libres**

La extracción de fitoquímicos libres se realizó según el procedimiento de Adom y

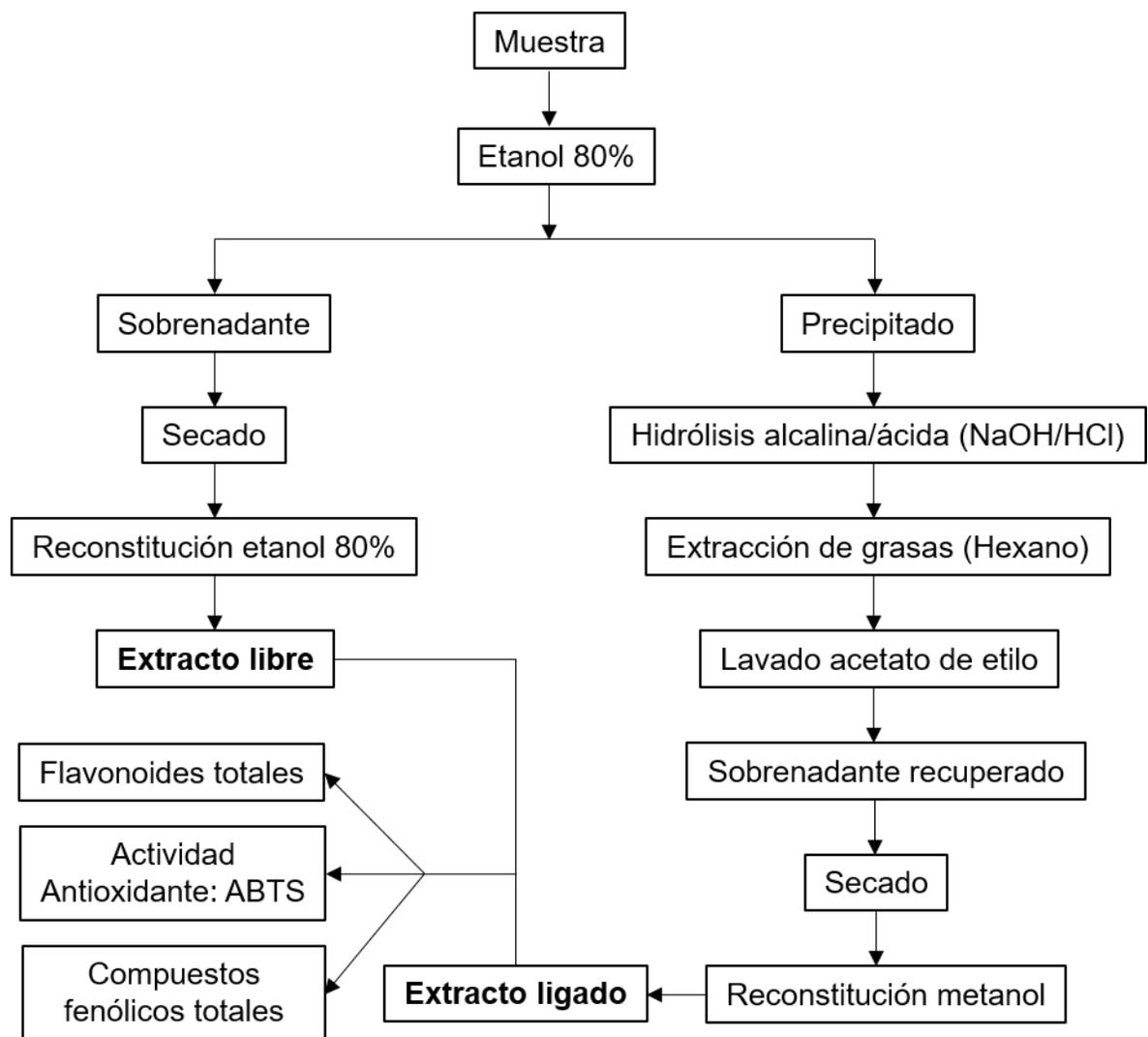


**Fig. 3** Diagrama de flujo del proceso de extrusión de semillas de frijol tépari

Liu (2002) (**Fig. 4**). Los fitoquímicos libres de cada una de las harinas de los tratamientos derivados del diseño experimental, se extrajeron de 0.05 g de muestra con 1 mL de etanol al 80% (v/v); se agitaron en un vortex durante 3 seg. y sonicaron durante 5 min, posteriormente se agitaron en vortex durante 10 min. Después se centrifugó a 3,000xg/10°C durante 10 min. El sobrenadante se colocó en un tubo eppendorf de 2 mL y se concentró a 45°C a presión baja (SpeedVac Concentrator Thermo Scientific SC250EXP) hasta llevar a sequedad. Los compuestos extraídos se reconstituyeron con 200 µL de etanol al 80% y se almacenó a 4°C hasta su posterior utilización. El precipitado se guardó para la obtención de los extractos fitoquímicos ligados.

## **2) Extracción de fitoquímicos ligados**

La extracción de fitoquímicos ligados se realizó según el procedimiento de Adom y Liu (2002), con ligeras modificaciones (Mora-Rochín y col 2010) (**Fig. 4**). El precipitado se sometió a una hidrólisis alcalina con 1 mL de NaOH 2M y la muestra se sometió a un tratamiento térmico, en baño María a 95°C/30 min, posteriormente se agitó durante 1 h a temperatura ambiente (25°C). La mezcla se neutralizó con 200 µL de HCl concentrado, seguido de una homogenización por 1 min en vortex y 5 min en sonicador, posteriormente se agitaron en vortex durante 10 min. Inmediatamente después se le agregaron 500 µL de hexano; se realizó la misma operación de agitación mediante el vortex, sonicar y se centrifugó a 3,000xg/10°C por 10 min, se extrajo el hexano y se agregó 500 µL de acetato de etilo, se agitaron



**Fig. 4** Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados para la determinación de actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales

**Adom y Liu (2002); Mora-Rochín y col (2010)**

en un vortex durante 3 seg. y sonicaron durante 5 min, posteriormente se agitaron en vortex durante 10 min. Después se centrifugó a 3,000xg/10°C durante 10 min., se recuperó el acetato de etilo y se almaceno en un tubo eppendorf; esta extracción se realizó 4 veces. La fracción de acetato de etilo se evaporó hasta sequedad en un concentrador (SpeedVac Concentrator Thermo Scientific SC250EXP). Los compuestos extraídos se reconstituyeron con 200 µL de metanol puro y se almacenaron a 4°C hasta su posterior utilización.

### **3) Compuestos Fenólicos totales**

El contenido de compuestos fenólicos totales (suma de compuestos fenólicos libres y ligados), en los extractos de fitoquímicos libres y ligados se determinó mediante el método colorimétrico descrito por Singleton y col (1999). Primero 20 µL del extracto se oxidaron con 180 µL del reactivo Folin-Ciocalteu. Luego de 3 min de reposo, se les adicionaron 50 µL de carbonato de sodio al 7% y se incubaron.

Después de 90 min de incubación, se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrómetro (Multiskan Go, Thermo SCIENTIFIC). Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar y el contenido de fenólicos totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por 100 g de muestra, en base seca.

### **4) Actividad Antioxidante (AAox)**

La actividad antioxidante de los extractos de fitoquímicos libres y ligados de las muestras se estimaron en términos de la actividad captadora de radicales libres mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS propuesto por Re y col (1999), el cual se basa en la reducción del radical ABTS\*\* por los antioxidantes

presentes en los extractos evaluados. Una solución stock del catión radical ABTS\*\* se generó mediante la reacción de la solución de ABTS con persulfato de potasio 2.45 mM (concentración final) y se dejó reposar la mezcla en la oscuridad durante 16 h antes de su uso. Una alícuota de la solución con el radical ABTS\*\* se diluyó en PBS hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se transfirieron 20  $\mu$ L del blanco y los extractos en una celda de cuarzo, el ensayo inicio cuando adicionamos 1980  $\mu$ L de la solución ABTS\*\*. Se registró la absorbancia a 734 nm 6 minutos después de haber iniciado el ensayo y se calculó la perdida de absorbancia del ABTS\*\* respecto a un blanco. Se utilizó una curva de calibración con Trolox y los datos se expresaron como  $\mu$ mol equivalente de Trolox por 100 g de muestra en base seca ( $\mu$ mol de ET/100 g, bs).

#### **b. Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)**

La digestibilidad proteínica *in vitro* de las harinas se determinó de acuerdo al procedimiento recomendado por Tinus y col (2012) basado en el de Hsu y col (1977). Se pesó 5 veces el equivalente a 62.5 mg de proteína de la harina y se rehidrato en 50 ml de agua destilada a 37°C durante 1 h con agitación constante (500 rpm), después de lo cual el pH se ajustó a 8.0 con NaOH 0.275 N y/o HCl 0.325 N. Se prepararon al momento del análisis 10 mL de una solución multienzimática que consistía en 16 mg de tripsina (T-0303 Tripsina del páncreas porcino) Tipo IX-S 15,600 unidades/mg solido-16,200 mg proteína), 31 mg de quimotripsina ( $\alpha$ -Quimotripsina de bovino páncreas C4129 tipo II 54 unidades/mg solido-60 unidades/mg proteína) y 13 mg de proteasa (Proteasa P5147 de *Streptomyces griseus* Tipo XIV, P3.5 unidades/mg de sólidos). El pH se ajustó a 8.0 y se mantuvo en refrigeración hasta el momento del

análisis. Tras la rehidratación, se añadieron 5 mL de la solución multienzimática a la dispersión de la muestra tomando la lectura de pH inicial y final después de 10 minutos en agitación (300 rpm). El cambio en el pH a los 10 min de la digestión ( $\Delta pH_{10 \text{ min}}$ ) se utilizó para calcular el porcentaje de digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) de las muestras con la siguiente fórmula:

$$\%DPIV = 65.66 + 18.10(\Delta pH_{10 \text{ min}})$$

## **6. Optimización del proceso de extrusión para la obtención de harinas de frijol tépari**

### **a. Obtención de harina de frijol tépari extrudido (HFTE)**

Para la obtención de harina de frijol tépari extrudido (HFTE) se utilizó el procedimiento descrito por Milán-Carrillo (2012) con ligeras modificaciones (**Fig. 3**). Las semillas de frijol tépari escarificadas se molturaron para la obtención de harinas de frijol tépari (HFT). Se envasaron en porciones de 300 g. Las porciones de HFT se humectaron con agua destilada hasta alcanzar un contenido de humedad del 24%. Las HFT humectadas se sometieron a reposo a 4-12°C durante 12 h; una vez transcurrido el reposo se equilibraron a temperatura ambiente (25°C) durante 2 h. éstas porciones de HFT se alimentaron al extrusor.

La extrusión se llevó a cabo en un extrusor de tornillo simple, con un diámetro de tornillo de 1.9 mm; relación longitud – diámetro 20:1; relación de compresión 2:1 y dado de salida de 3 mm. Las condiciones de operación del extrusor se derivarán de la combinación factorial de temperatura de extrusión (TE, 60-150 °C) y velocidad de tornillo (VT=50-240rpm), los extrudidos se colectaron en charolas de aluminio

perforadas y, posteriormente, se enfriaron y secaron a temperatura ambiente durante 12h. Los extrudidos secos se sometieron a molienda. Las harinas de frijol tépari extrudidas (HFTE) se empacarán en bolsas de polietileno y almacenarán a 4°C hasta su utilización.

Para la optimización del proceso de extrusión se seleccionaron como variables de respuesta compuestos fenólicos totales (CFT), Actividad Antioxidante (AAox), y digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV). Las HFTEO se evaluaron para CFT, AAox y DPIV.

#### **b. Metodología de superficie de respuesta, diseño experimental, análisis estadístico para la optimización del proceso de extrusión**

La **MSR** se aplicó para conocer la mejor combinación de las variables del proceso de extrusión [Temperatura de extrusión (**TE**) / Velocidad de tornillo (**VT**)] para la obtención de una harina funcional [harina de frijol tépari extrudida optimizada (**HFTEO**)] a partir de harina de frijol tépari crudo. Se aplicó la MSR, como herramienta de optimización, y utilizó un diseño central compuesto rotatable de dos factores [Temperatura de extrusión (**TE**=60-150°C / Velocidad de tornillo (**VT**, 50-240 rpm)] y cinco niveles el cual generó 13 tratamientos. Se aplicó un análisis de regresión a los valores experimentales de las variables de respuesta, los términos no significativos ( $p > 0.1$ ) se eliminaron y se recalculó un nuevo polinomio (modelo de predicción) para cada una de las variables de respuesta. Se aplicó el Método convencional gráfico de la **MSR** para obtener valores máximos (optimización) de compuestos fenólicos totales

(**CFT**), actividad antioxidante (**AAox**) y digestibilidad proteínica *in vitro* (**DPIV**). Los modelos de predicción se utilizaron para representar gráficamente el sistema. La sobreposición de gráficas de contornos de c/u de las variables de respuesta permitió obtener una gráfica de contornos para la observación y selección de la mejor (óptima) combinación de **TE/VT** para producir harina de frijol tépari extrudido optimizado (**HFTEO**). Para el análisis de los datos y la obtención de gráficas de superficie de respuesta y de contornos se utilizó el software Design Expert versión 7.0.0.

### **c. Optimización**

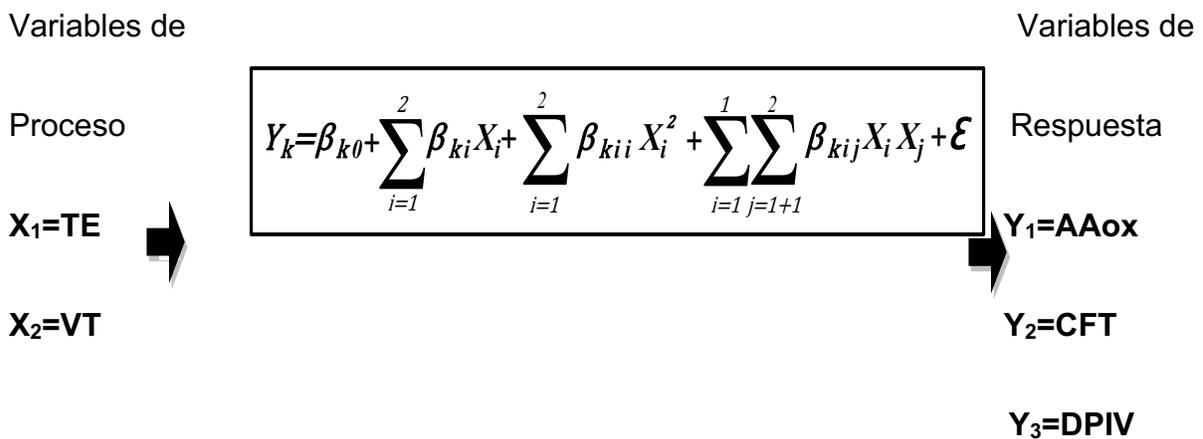
Se aplicó el método convencional gráfico para obtener valores máximos de CFT, Aaox y DPIV. Los modelos de predicción se utilizaron para representar gráficamente el sistema.

## **7. Obtención de harina de frijol tépari extrudido optimizado (HFTEO)**

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (**MSR**), como técnica de optimización, para determinar la mejor combinación de variables del proceso de extrusión para la producción de harina de frijol tépari extrudida optimizada (**HFTEO**) con valores de compuestos fenólicos totales (**CFT**), actividad antioxidante (**AAox**) y digestibilidad proteínica *in vitro* (**DPIV**) altos. Datos de la literatura y ensayos preliminares se tomaron en cuenta para seleccionar el número y niveles de variación de las variables de proceso en el diseño experimental. Se seleccionó un diseño experimental central compuesto rotatable de 13 tratamientos.

Como variables de proceso se seleccionaron temperatura de extrusión (TE, 50-160°C) y velocidad de tornillo (VT, 50-240 rpm). Como variables de respuesta se consideraron compuestos fenólicos totales (**CFT**), actividad antioxidante (**AAox**) y digestibilidad proteínica *in vitro* (**DPIV**).

El modelo empírico de la “caja negra” que se presenta a continuación representa la relación entre variables de proceso (**TE, VT**) y variables de respuesta (**CFT, AAox, DPIV**).



La expresión dentro de la “caja negra” representa **CFT, AAox** y **DPIV** cuyo  $k=1, y 2$ , respectivamente;  $\beta_{k0}$ ,  $\beta_{ki}$ ,  $\beta_{kii}$  y  $\beta_{kij}$  representan la constante y los coeficientes de los efectos lineal, cuadrático y de interacción, respectivamente.  $X_i$ ,  $X_i^2$  y  $X_i X_j$  representan los efectos lineales, cuadrático y de interacción de las variables independientes, respectivamente; y  $\epsilon$  representa el error, primariamente considerado por la incapacidad para determinar el modelo verdadero. Se aplicó análisis de regresión, los términos no-significativos ( $p \leq 0.1$ ) se eliminaron del polinomio de segundo orden, se recalculó un nuevo polinomio y se obtuvo un modelo de predicción para cada variable de respuesta (Myers, 1977). Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza de una sola

vía (ANOVA), seguido por la aplicación de la prueba de rango múltiple de Duncan, con un nivel de significancia del 0.05, para comparación de medias. Para la realización de estos análisis se utilizó el programa STAT-EASE (Design Expert, 2007).

Para la obtención de la **HFTEO** con valores máximos de **CFT**, **AAox** y **DPIV** se utilizó el procedimiento descrito en el apartado VII.B.6.a de este trabajo donde se utilizará la mejor condición de **TE** y **VT**.

## **8. Evaluación de HFTEO**

### **a. Composición química**

A la HFTEO se le evaluó el contenido de proteína cruda, grasa cruda y cenizas acorde a los procedimientos oficiales de la AOAC (1999) descritos en la sección VII.B.3

### **b. Propiedades fisicoquímicas**

#### **1) diferencia total de color ( $\Delta E$ )**

La diferencia total de color ( $\Delta E$ ) de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.2.a

#### **2) Actividad acuosa**

La actividad acuosa de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.2.b

#### **3) pH**

El pH de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.2.c

### **c. Propiedades Funcionales y Nutricionales**

### **1) Índice de absorción de agua (IAA)**

Para esta determinación se utilizó el método descrito por Anderson y col (1969). Una muestra de harina de 2.5 g se suspendió en 30 ml de agua a 30°C en un tubo para centrifuga de 50 ml previamente tarado, la suspensión se agitó en agitador orbital a una velocidad moderada por 30 min. La suspensión se centrifugó a 3000 xg/30°C/10 min. El líquido sobrenadante se decantó cuidadosamente en un recipiente tarado para la determinación de sólidos. El gel formado se pesó, y el índice de absorción de agua se calculó con este peso como gramos de gel por gramo de muestra seca. Esta prueba se realizó por triplicado.

### **2) Índice de solubilidad en agua (ISA)**

Se determinó de acuerdo al método reportado por Anderson y col (1969). El índice de solubilidad en agua (ISA) fue expresado como gramos de sólidos por gramo de sólidos originales, se calculó a partir del peso de los sólidos secos recuperados mediante evaporación del sobrenadante líquido que se guardó durante la determinación de IAA durante la noche a 110°C.

### **3) Índice de absorción de aceite (IAAc)**

Se determinó de acuerdo a la metodología reportada por Lin y col (1974) y Ordorica-Falomir (1988). Muestras de 0.5 g de harina con 3 mL de aceite vegetal se colocaron en un tubo graduado para centrifuga, se agitaron durante 1 min en un vortex y se dejaron reposar durante 30 min. Finalmente se centrifugaron a 1600 x g por 25 min. Se midió el volumen de aceite libre. La cantidad de aceite absorbido se calculó

restando el volumen de aceite libre al volumen del aceite inicial y se expresó como mL de aceite absorbido/g de harina. La prueba se realizó por triplicado.

#### **4) Índice de dispersabilidad**

Se determinó de acuerdo a la técnica reportada por Mora-Escobedo y col (1991). Muestras de harina de 1 g se mezclaron en un tubo cónico graduado con 10 mL de agua destilada. Las muestras se homogenizaron en un Ultra Turrax (10,000 rpm x 5 min). La separación de las fases se midió después de 30 min de reposo.

#### **5) Formación y estabilidad de espuma**

Estos parámetros se determinaron mediante los métodos de Hauffman y col (1975) y Kabirullha y Wills (1982). En una probeta de 100 mL se agregaron 0.5 g de muestra más 50 mL de agua destilada. La mezcla se agitó en un Ultraturax a 12,000 rpm durante 1 min. Posteriormente se midió el volumen de la espuma formado. La capacidad de formación de espuma se reportó como porcentaje (% CFE) y se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%CFE = \frac{\text{Vol. después de agitado} - \text{Vol. antes de agitado}}{\text{Vol. antes de agitado}} \times 100$$

El material se dejó reposar durante 30 min y al final de este tiempo se midió el volumen de la espuma residual y la estabilidad de la espuma se expresó como porcentaje de estabilidad de espuma (%EE) mediante la siguiente ecuación:

$$\%EE = \frac{\text{Vol. espuma despues del reposo}}{\text{Vol. total de la emulsión}} \times 100$$

## **6) Capacidad de formación y estabilidad de emulsión**

Para la determinación de la capacidad emulsión y estabilidad de emulsión se utilizó la metodología reportada por Hauffman y col (1975). Se pesaron 0.7 g de muestra, se le agregaron 10 mL de agua destilada y 10 mL de aceite vegetal. Posteriormente se agitó en un homogeneizador Ultraturax a 12,000 rpm durante 1min. El contenido de esta mezcla se distribuyó en tubos cónicos graduados para centrifuga y se centrifugaron a 1,300xg durante 5 min. Se midió el volumen de la emulsión formada y se determinó relacionando la capa emulsificada y el volumen total y se reportó como porcentaje de capacidad emulsión (%CE). La estabilidad de emulsión se evaluó con los mismos tubos utilizados en la determinación de %CE. Estos tubos se trataron térmicamente en un baño maría a 80°C durante 30 min. Después se enfriaron y se centrifugaron a 1,300xg durante 5min. Finalmente se midió el volumen de la emulsión y el porcentaje de estabilidad de emulsión (%EE). Se reportó como porcentaje de emulsión retenido después del tratamiento térmico. La prueba se realizó por triplicado.

## **7) Digestibilidad Proteínica *in vitro* (DPiV)**

La digestibilidad proteínica *in vitro* (DPiV) de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.5.b

### **d. Factores antinutrimientales**

#### **1) Fitatos**

El contenido de fitatos (ácido fítico) fue determinado mediante el método colorimétrico descrito por Vaintraub y Lapteva (1988), con ligeras modificaciones.

Se pesaron aproximadamente 0.5 g de muestra y se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL, se adicionaron 10 mL de HCl al 3.5%. Los tubos se agitaron durante 1 h a temperatura ambiente en un agitador orbital (marca Ovan Noria R. NR50E). Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (5,000 xg por 10 min. en centrifuga marca eppendorf modelo 5804R). Se preparó una solución estándar de fitato de sodio en agua destilada (0.01 g de fitato de sodio sigma P-8810 en 10 mL de agua destilada). A partir de esta solución se preparó diluciones (0, 100, 200, 400 y 500 µg/mL), de las cuales se tomaron alícuotas de 0.2 mL y se les añadió 2.8 mL de agua destilada y 1 mL de Reactivo de WADE (30 mg de FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O + 300 mg de ácido sulfosalicílico + 100 mL de agua destilada) a cada una de las diluciones y se midió su absorbancia a 500 nm contra un blanco de agua destilada. Para la valoración de fitatos, se tomaron alícuotas de 0.2 mL del extracto que posteriormente se les agregó 2.8 agua destilada para tener un volumen final 3 mL y posteriormente se agregó 1 mL de reactivo de Wade. Los valores de las absorbancias obtenidas para cada muestra se interpolaron en la curva tipo de fitato de sodio. Los resultados fueron expresados como mg de ácido fítico 100 g de muestra. Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

$$\frac{mg \text{ eq Fitato sodio}}{100 \text{ g muestra}} = \mu g \text{ fitato sodio} \times \frac{1}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 10 \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \times 100$$

## 2) Inhibidores de tripsina

Para la evaluación de los inhibidores de tripsina se utilizó el método reportado por Welham y Domoney (2000), basado a su vez en el de Kakade y col. (1974),

con ligeras modificaciones. Estos métodos permiten determinar la capacidad de la muestra para inhibir la actividad que la tripsina control ejerce sobre el sustrato sintético  $\alpha$ -N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA). Para llevar a cabo la extracción de los inhibidores de tripsina, se pesaron 0.25 g de muestra y se les añadió 10 mL de HCl 0.05M. Se mantuvieron en agitación durante 1h a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo los tubos se centrifugarán a 5000 xg/10 min, enseguida se recolectó el sobrenadante y se ajustó el pH a 7.5 (con NaOH 1N hasta pH 3 y después con solución Tris pH 7.5) y se mantuvieron en un baño de hielo hasta el momento de su valoración. Al mismo tiempo en tubos eppendorf mantenidos en baño maría a 37°C se preparó el control, el blanco de control y la muestra; para el control se agregó 200  $\mu$ L de Tris al 7.5 (3.025 g de tris aforado a 500 mL y ajustado el pH a 7.5) y se añadieron 200  $\mu$ L de solución de tripsina (10 mg de tripsina de 16700 unidades/mg de proteína disuelta en 500 mL de HCl 1mM). Pasado el tiempo de inhibición enzimático (2 min), se adicionó 500  $\mu$ L de solución BTC (BAPNA en dimetilsulfóxido + Tris – HCl 0.05 M a pH 8.2 y cloruro de calcio 1M). Al cabo de 10 min. de incubación, la reacción enzimática se detuvo con 100  $\mu$ L de ácido acético al 30%. Para el blanco de control se agregó 200  $\mu$ L de tris 7.5 y se añadieron 200  $\mu$ L de solución de tripsina. Pasado el tiempo de inhibición enzimático (1 min.), se agregó 100  $\mu$ L de ácido acético al 30%. Al cabo de 1 min. se adicionó 500  $\mu$ L de solución BTC. Para preparar la muestra se agregaron 200  $\mu$ L de extracto y se añadieron 200  $\mu$ L de solución de tripsina. Pasado el tiempo de inhibición enzimático (2 min.), se adicionarán 500  $\mu$ L de solución BTC. Al cabo de 10 min. de incubación, la reacción enzimática se detuvo con 100  $\mu$ L de ácido acético al 30%. La muestra se centrifugó a 3800 rpm durante 10 min. y se midió su

absorbancia a una longitud de onda de 410 nm en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific, modelo GENESYS 10UV-Visible, absorbancia a la cual el sustrato cromogénico BAPNA (amida), al ser hidrolizado por la tripsina, libera un compuesto colorido de p-nitroanilina (amina). La actividad de los inhibidores de tripsina se expresará 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 y en las condiciones anteriormente definidas. El cálculo para obtener el número de unidades de inhibidor de tripsina se realiza de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Unidades Inhibidoras de Tripsina (UIT)} = \frac{\text{Abs. control de tripsina} - \text{Abs. muestra}}{0.01}$$

### **3) Taninos condensados**

El análisis de los taninos condensados (TC) se llevó a cabo de acuerdo a la metodología reportada por Broadhurst y Jones (1978), con ligeras modificaciones (Xu y Chang, 2007). En un vial de 2 mL se agregó 0.1 g de muestra y se le adicionó 1 mL de acetona al 80%, luego se agitaron a 230 rpm en un shaker por 3 h; transcurrido el tiempo, los viales se introdujeron en una centrifuga y se centrifugaron a 1600 x g/ 10 min/ 4°C, y finalmente se obtuvieron los extractos para la determinación de taninos condensados. Para la determinación de taninos condensados, se agregaron 120 µL de metanol-vainillina al 4% y 600 µL de ácido clorhídrico concentrado a 20 µL de extracto muestra. Se dejó reposar por 15 min y se midió la absorbancia a 500 nm utilizando acetona como blanco. El valor de los taninos condensados se expresó como mg equivalentes de catequina por 100 gramos de muestra seca.

Para la evaluación de taninos fue usando el método espectrofotométrico descrito por Shahidi & Naczk, (1995). Se pesaron 0.5 g de muestra, se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL y se adicionaran 5 mL de acetona al 80%. Los tubos se agitaron durante 3 h a temperatura ambiente en un agitador orbital. Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (3000 rpm, 10 min. en centrifuga marca eppendorf modelo 5804R). Se preparó una solución estándar disolviendo 0.025 g de catequina en 25 mL de acetona pura para obtener una concentración final de 1000 ppm. Partiendo de esta solución se realizaron diluciones con acetona (25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 y 1000). De cada una de las diluciones se tomó 20  $\mu$ L y se le agregó 1200  $\mu$ L de reactivo de MeOH-vainillina 4% (4g de vainillina en 100 mL de metanol) y 600  $\mu$ L de HCl concentrado. Finalmente se midió su absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos (20  $\mu$ L acetona, 1200 mL reactivo de MeOH-vainillina 4% y 600  $\mu$ L de HCl concentrado). Para la valoración de taninos en los extractos se tomarán 20  $\mu$ L de los mismos y se les adicionaron 1200  $\mu$ L reactivo de MeOH-vainillina 4% y 600  $\mu$ L de HCl concentrado. Posteriormente se leyó su absorbancia y su valor fue interpolado en la curva de catequina, finalmente los resultados se expresaron como mg equivalentes de catequina por 100 g de muestra con la siguiente formula:

$$\frac{mg \text{ eq. catequina}}{100 \text{ g muestra}} = \mu g \text{ catequina} \times \frac{1}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 10 \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \times 100$$

#### 4) Saponinas

El contenido de saponinas totales fue determinado usando el método espectrofotométrico descrito por Hiai y col., (1976). Se pesaron 0.5 g de muestra, se

colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL y se adicionaron 10 mL metanol al 80%. Los tubos se agitaron durante 16 h a temperatura ambiente en un agitador orbital. Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (5000 rpm, 10 min. en centrifuga marca eppendorf modelo 5804R); a los tubos con el remanente de la muestra se les adicionó 5 mL de metanol al 80%, se agitaron en vortex (marca Fisher Scientific) y se centrifugaron (5000 rpm, 10 min.) para recolectar nuevamente el sobrenadante, el cual fue unido con el anterior (este procedimiento se realizó dos veces). Se preparó una solución estándar disolviendo 10 mg de diosgenina en 4 mL de agua destilada y posteriormente se añadió 16 mL de metanol absoluto, se agitó en vortex y se sonicó 5mn o hasta homogeneizar para obtener una concentración final de 0.5 mg/mL. Partiendo de esta solución se realizaron diluciones con metanol al 80% para tener 0, 25, 50, 75, 100 y 125 µg en un volumen de 0.25 mL, respectivamente. A cada una de las diluciones se le agregaron 0.25 mL de reactivo de vainillina (vainillina 80mg/mL en metanol absoluto) y 2.5 mL de ácido sulfúrico al 72%. Las mezclas obtenidas se calentaron en un baño a 60°C por 10 min. Terminado este periodo de tiempo se enfriaron los tubos en un baño de hielo y finalmente se midió su absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos (0.25 mL metanol al 80%, 0.25 mL reactivo de vainillina+ 2.5 mL ácido sulfúrico). Para la valoración de saponinas en los extractos se tomó 200 µl de los mismos y se les adicionaron 50 µl de metanol al 80% a temperatura ambiente. Estas preparaciones fueron transferidas a un baño de hielo para la adición de 0.25 mL del reactivo de vainillina y 2.5 mL de ácido sulfúrico y posteriormente ser incubadas a 60°C durante 10 min. Pasado el tiempo se leyó su absorbancia y su valor fue interpolado en la curva tipo de diosgenina para obtener µg de disogenina por cada mL, finalmente los resultados se expresaron como mg

equivalentes de diosgenina en 100 g de muestra. Los cálculos se realizan de la siguiente manera:

$$\frac{mg \text{ eq. diosgenina}}{100 \text{ g muestra}} = \frac{\mu g \text{ diosgenina}}{mL} \times \frac{1}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 20 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu g} \times 100$$

#### **e. Análisis de fitoquímicos por cromatografía en capa fina (TLC).**

Los metabolitos secundarios (es decir, alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos/esteroides, derivados antracénicos libres, Cumarinas volátiles y cardiotónicos) se determinaron mediante pruebas de cromatografía en capa y fina (TLC) según lo informado por Harborne (1973). La evaluación se realizó por observación visual directa y el contenido se estimó en base a una escala relativa de alto, mediano y bajo. Se realizaron cuatro extractos: acuoso, metanólico, etanólico y clorofórmico. Para la obtención de los extractos se pesaron 30 g de harina y se mezclaron con 100 mL de agua, metanol, etanol y cloroformo respectivamente, en agitación constante durante 48 h a 4°C. El 50% del total del extracto fue llevado a sequedad y 50% fue llevado a la mitad de su volumen total. Las determinaciones se llevaron a cabo mediante las siguientes metodologías:

##### **1) Alcaloides**

De los cuatro diferentes extractos, se tomó una muestra de 0.2 ml de cada uno y se colocaron en tubos de ensayo, posteriormente se agregaron 3 gotas de los reactivos de reconocimiento: Dragendorff, Mayer y Wagner. Se empleó un tubo de ensayo con extracto como control para comparar cambios de coloración. Una leve turbidez o precipitado (rojo a naranja, blanco a crema y marrón) evidencia la posible presencia

de los mismos. Para el análisis por TLC se coloración 9 gotas del extracto en una placa de gel de sílice como absorbente y como sistema de disolvente: cloroformo: metanol (9:1). Para la detección se usó el revelador de Dragendorff.

## **2) Flavonoides**

Para las reacciones en tubo, de los cuatro diferentes extractos, se tomó una muestra de 0.2 ml de cada uno y se colocaron en tubos de ensayo, posteriormente 5 fragmentos de Mg y se agregaron por las paredes, unas gotas de HCl (1N). Para el análisis por TLC se coloración 9 gotas del extracto en una placa de gel de sílice como absorbente y como sistema de disolvente: hexano: acetato (8:2) para extractos crudos y extrudidos. Para la detección con revelamiento químico se utilizó el reactivo sulfato cérico amoniacal: se asperjo la placa, se secó con secadora industrial y se observó a luz UV-254 nm y UV-365 nm.

## **3) Taninos**

Para la reacción en tubo se agregaron 0.2 mL y se adicionaron 2 gotas de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) al 10%. De acuerdo al resultado de una coloración verde que corresponde a taninos condensados, para su confirmación se preparó una nueva muestra tomando 0.2 mL de extracto y 0.1 mL de solución de gelatina, solución de gelatina-sal y solución salina. La aparición de precipitado blanco en los tubos con soluciones de gelatina y de gelatina-sal son resultados positivos para el test de taninos. Si también aparece en la solución salina se considera negativo.

## **4) Saponinas**

Para la reacción en tubo se tomó 0.1 g de los extractos secos y se le agregó 1 mL de agua destilada en ebullición. Se enfrió, agito vigorosamente y se dejó reposar 15 min. Se clasifico la presencia de saponinas por la altura y formación de espuma. Para el análisis de TLC se usó como adsorbente sílice de gel en placa y para el sistema de disolventes cromatográficos se utilizó acetato: metanol 9:1 para los extractos crudos y hexano: acetato (8:2) y acetato para extractos extrudidos. Para la detección se usó el reactivo de tricloruro de antimonio (crudos y extrudidos) y reactivo de vainillina-ácido sulfúrico (extrudidos) que se torna de un color rojo-violeta al visible si hay presencia y en fluorescencia presenta coloración rojo-violeta, azul y verde a UV-365 nm.

#### **5) Triterpenos y/o esteroides**

Para las reacciones en tubo se tomaron 0.2 mL y se añadieron 0.1 mL de reactivo de Liebermann-Burchard, en la que, si hay presencia se torna una coloración verde y así mismo se llevó a cabo la reacción Salkowski. Para el análisis por TLC se utilizó el sistema de disolvente cromatográficos hexano: acetato (8:2) para ambos extractos (crudo y extrudido). Para la detección se utilizó el revelador de Liebermann-Burchard.

#### **6) Derivados antracénicos libres**

Para las reacciones en tubo se tomaron 0.2 ml de cada extracto por duplicado. En el primer tubo se adicionó 1 mL de solución de NaOH al 5% (coloración rojiza en la fase acuosa, indica la presencia de antraquinonas: Reacción de Bomtraeger). En el segundo tubo, se adiciono 1.0 mL de solución de acetato de magnesio al 0.5% en metanol (coloración roja indica presencia de antraquinonas libres). Para el análisis por TLC se utilizó el sistema de disolventes hexano: acetato (8:2) para ambos extractos

(crudo y extrudido). Para la detección con tratamiento químico se usó una solución de hidróxido de potasio (Reacción de Bornträger).

### **7) Cumarinas volátiles**

Para la reacción en tubo se tomaron 0.2 ml de cada extracto y se tapó con papel filtro impregnado en disolución de NaOH 0.1 N y se llevó a baño maría por 5 min. Después del tiempo se removió el papel filtro y se examinó bajo luz UV, siendo la fluorescencia amarilla indicativa de la presencia de cumarinas. Para el análisis por TLC se utilizó el sistema de disolventes hexano: acetato (8:2) para ambos extractos (crudo y extrudido). Para la detección con tratamiento químico se usó una solución de KOH al 5% en etanol.

### **8) Cardiotónicos**

Para la reacción en tubo, se tomaron 5 tubos de ensayo y se colocó 1 mL de cada extracto y se agregaron 4 ml de los siguientes reactivos: reactivo de Baljet (coloración roja, naranja-rojiza o violeta indica cardenólidos), reactivo de Kedde (coloración rosa o azul-violeta al visible indica cardenólidos), reactivo de Raymond-Marthoud (igual coloración que el reactivo de Baljet), reactivo de Liebermann-Burchard (coloración verde, azul-verde, rojo-azul) y reactivo de Salkowski (coloración amarillo-rojo). Para el análisis por TLC se utilizó el sistema de disolventes hexano: acetato (8:2) para ambos extractos (crudo y extrudido). Para la detección con tratamiento químico se utilizó reactivo de Kedde y reactivo de Raymond-Marthoud.

### **f. Contenido de Fitoquímicos y Actividad antioxidante (AAox)**

### **1) Extracción de fitoquímicos libres**

La extracción de fitoquímicos libres de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.5.a.1

### **2) Extracción de fitoquímicos ligados**

La extracción de fitoquímicos libres de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.5.a.2

### **3) Compuestos fenólicos totales**

La extracción de fitoquímicos libres de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.5.a.3

### **4) Flavonoides totales**

Para la determinación de flavonoides totales (suma de flavonoides libres y ligados). Se colocará 20  $\mu\text{L}$  del extracto (de fitoquímicos libres y ligados) al cual se le adicionarán 80  $\mu\text{L}$  de agua destilada; posteriormente se le agregarán 6  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5%, luego de 5 min de reposo, se le adicionarán 12  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% seguido de 40  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1M. Finalmente, luego de 30 min de reposo se medirá la absorbancia a 510 nm utilizando un lector de microplaca (Synergy<sup>TM</sup> HY Multi-Detection, Bio Tek, Inc., Winooski, VT, EUA). Se preparará una curva de calibración utilizando catequina como estándar y el contenido de flavonoides se expresará como mg de equivalentes de catequina (mg ECA) por 100 g de muestra en base seca.

### **5) Taninos condensados**

El contenido de taninos condensados de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.8.d.3

#### **6) Actividad antioxidante ABTS**

La actividad antioxidante (AAox) de HFTEO se determinó de acuerdo con lo descrito en la sección VII.B.5.a.4

### **9. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos de las evaluaciones de las harinas de frijol tépari se analizarán mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, empleando el paquete estadístico Statgraphic Plus 6.0. Se aplicará la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS GRANOS DE FRIJOL TÉPARI

EL **cuadro 3** muestra las características físicas de las semillas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*). Las dimensiones físicas de los granos son indicadores de la calidad comercial, manejo y almacenamiento de los mismos. El tamaño de los granos de frijol tépari fue 7.36 mm de largo, 5.44 mm de ancho y 4.60 mm de grosor. Los valores se encuentran en el rango reportado con Idouraine y col., (1995), reportando 8.3 mm de largo y 5.6 mm de ancho, así como con Salas-López, (2015) con valores de 7.65 mm de largo y 5.67 mm de ancho.

El peso de 100/1,000 granos es otra medida que indica el tamaño del grano de frijol tépari. El peso de 100 y 1,000 granos en frijol tépari fueron de 13.32 g y 133.22 g, dichos valores son menores a los reportados por González de Mejía y col (2005) y Salas-López (2015) reportando valores para el peso de 1,000 granos de 143.76 g y 141.27 g respectivamente.

El peso de hectolítrico es una medida indirecta de la densidad del grano, es considerado un indicador de la calidad del grano y depende de su acomodo en un espacio determinado. Demasiados espacios vacíos resultarán en un bajo peso hectolítrico. El peso hectolítrico de los granos de frijol tépari fue de 76.59 Kg/hL. El calibre fue de 235 granos/ 30 g. Estos valores coinciden con lo reportado por Salas-López (2015).

### B. MEJORES CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE HARINA DE

**Cuadro 3.** Características físicas de los granos de frijol tépari

<b>Características físicas</b>	<b>Frijol tépari</b>
<b>Dimensiones (mm)</b>	
Largo	7.36 ± 0.52
Ancho	5.44 ± 0.40
Grosor	4.60 ± 0.38
<b>Peso de 1000 granos (g)</b>	133.22 ± 0.78
<b>Peso de 100 granos (g)</b>	13.32 ± 0.08
<b>Peso hectolítrico (Kg/hL)</b>	76.59 ± 1.18
<b>Calibre</b>	235 ± 7.38

Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar

## **FRIJOL TÉPARI EXTRUDIDA CON CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (CFT), ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (AAox) Y DIGESTIBILIDAD PROTEÍNIC *in vitro* (DPIV) ALTOS**

El **cuadro 4** muestra las diferentes combinaciones de variables del proceso de extrusión [Temperatura de extrusión (TE) y velocidad de tornillo (rpm)] utilizadas para la producción de harina de frijol tépari extrudido y los valores experimentales de las variables de respuesta [Compuestos fenólicos totales (CFT), Actividad antioxidante (AAox) y Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)] obtenidas para cada combinación.

### **1. Modelos de predicción**

#### **a. Compuestos fenólicos totales (CFT)**

La temperatura de extrusión y la velocidad de tornillo tuvieron un efecto significativo ( $p < 0.01$ ) sobre CFT de las harinas de frijol tépari extrudido (HFTG). De igual manera se observó un efecto significativo de la interacción temperatura de extrusión x velocidad de tornillo ( $p > 0.01$ ), así como los términos cuadráticos de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo sobre el CFT de las HFTEO. El modelo de regresión para el contenido de CFT de las HFTEO fue del orden cuadrático y presentó las siguientes expresiones:

Usando variables codificadas:

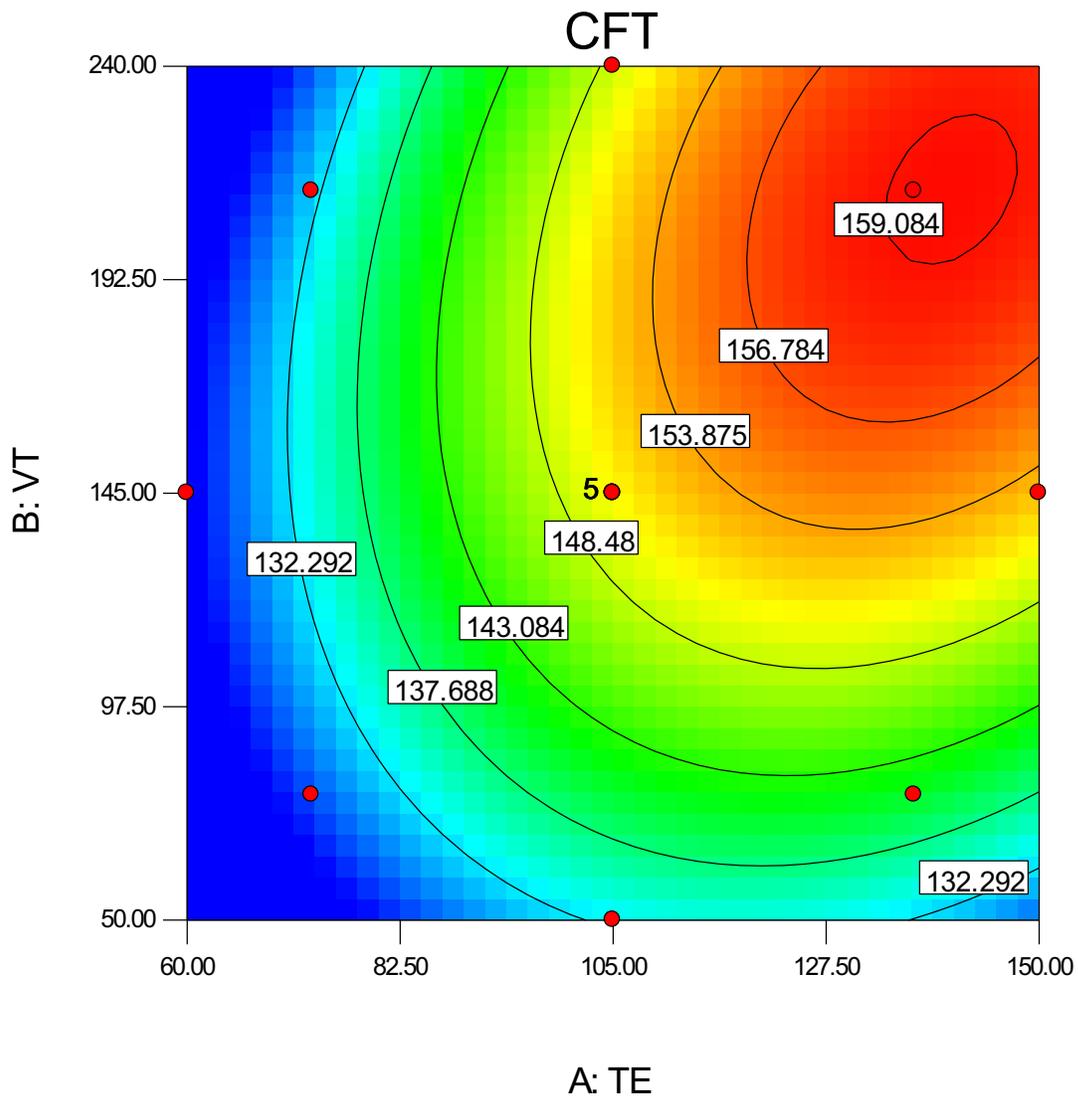
$$\text{CFT} = 150.61 + 10.42^a + 5.77B + 3.47A*B - 6.20A^2 - 4.80B^2$$

Usando variables originales:

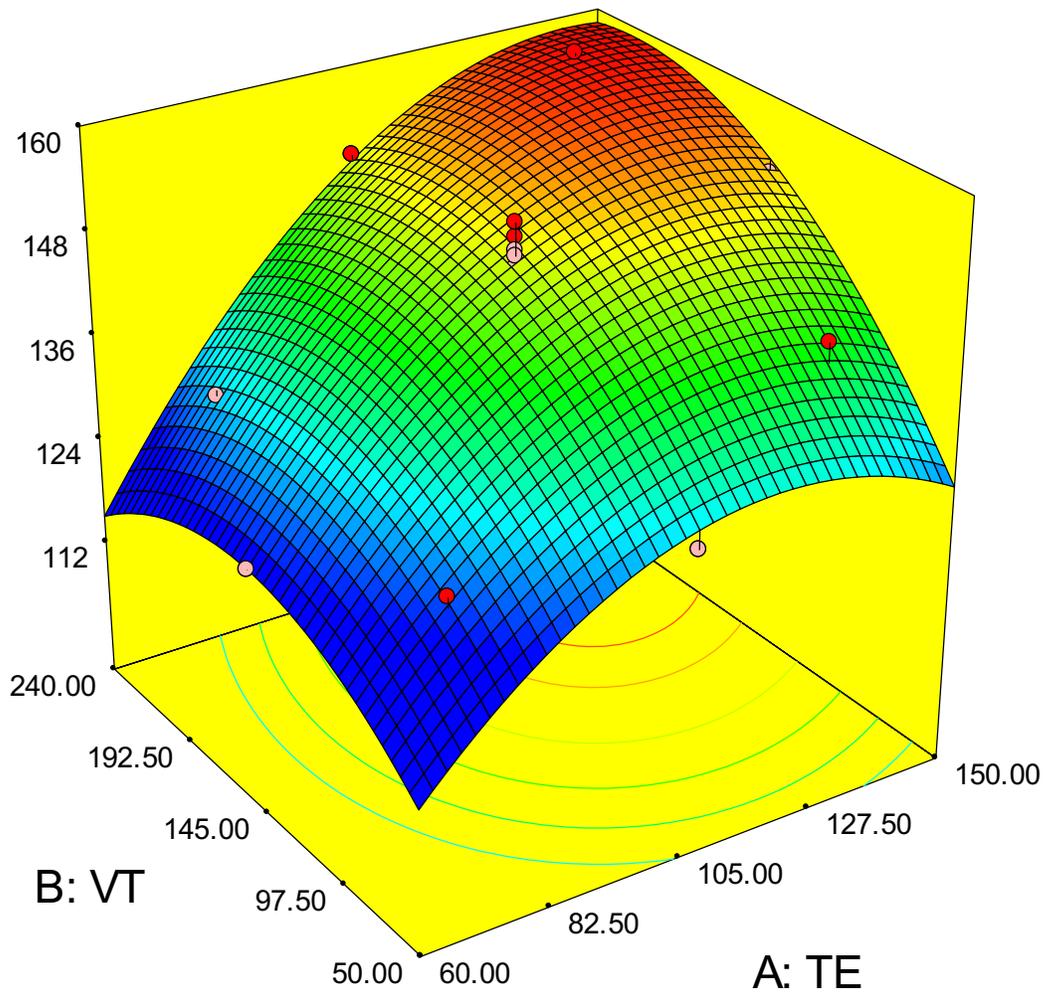
**Cuadro 4.** Diseño experimental utilizado para la obtención de diferentes combinaciones de temperatura de extrusión/velocidad de tornillo para la producción de harinas de frijol tépari extrudido y resultados experimentales para las variables de respuesta.

Trat.	TE (°C)	VT (rpm)	CFT <sup>a</sup> (mg EAG/100 g)	Aox <sup>a</sup> ( $\mu$ mol ET/100 g)	DPIV <sup>a</sup> (%)
1	73	78	<b>128</b>	8,214	<b>77.5</b>
2	137	78	143	8,669	<b>83.2</b>
3	73	212	131	8,441	78.1
4	137	212	<b>160</b>	9,374	81.8
5	60	145	123	<b>7,810</b>	76.5
6	150	145	151	8,662	81.9
7	105	50	131	9,119	81.7
8	105	240	150	<b>9,485</b>	80.8
9	105	145	148	8,535	81.7
10	105	145	152	8,594	80.0
11	105	145	150	8,364	80.6
12	105	145	150	8,345	81.6
13	105	145	153	8,506	81.7

<sup>a</sup>Todos los valores son en base seca.



**Figura 5. Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el contenido de Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g, bs) de las harinas de frijol tépari extrudido.**



**Figura 6. Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el contenido de Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g, bs) de las harinas de frijol tépari extrudido.**

$$\text{CFT} = 38.66532 + 1.377\text{TE} + 0.22378\text{VT} + 1.62281\text{E-}003\text{TE*VT} - 6.12010\text{E-}003\text{TE}^2 - 1.06312\text{E} - 003\text{VT}^2$$

El modelo de regresión explicó el 98.15 % de la variación total en los valores de Compuestos fenólicos totales ( $p < 0.0001$ ). Las **Fig. 5 y 6** muestran el efecto de la TE y VT sobre el contenido de compuestos fenólicos de las harinas de frijol tépari extrudido. En las dos figuras se observa que el contenido de CFT aumenta al incrementar la TE y VT. Los valores de compuestos fenólicos totales variaron de 128 hasta 160 mg EAG/100 g (bs).

#### **b. Actividad antioxidante (AAox)**

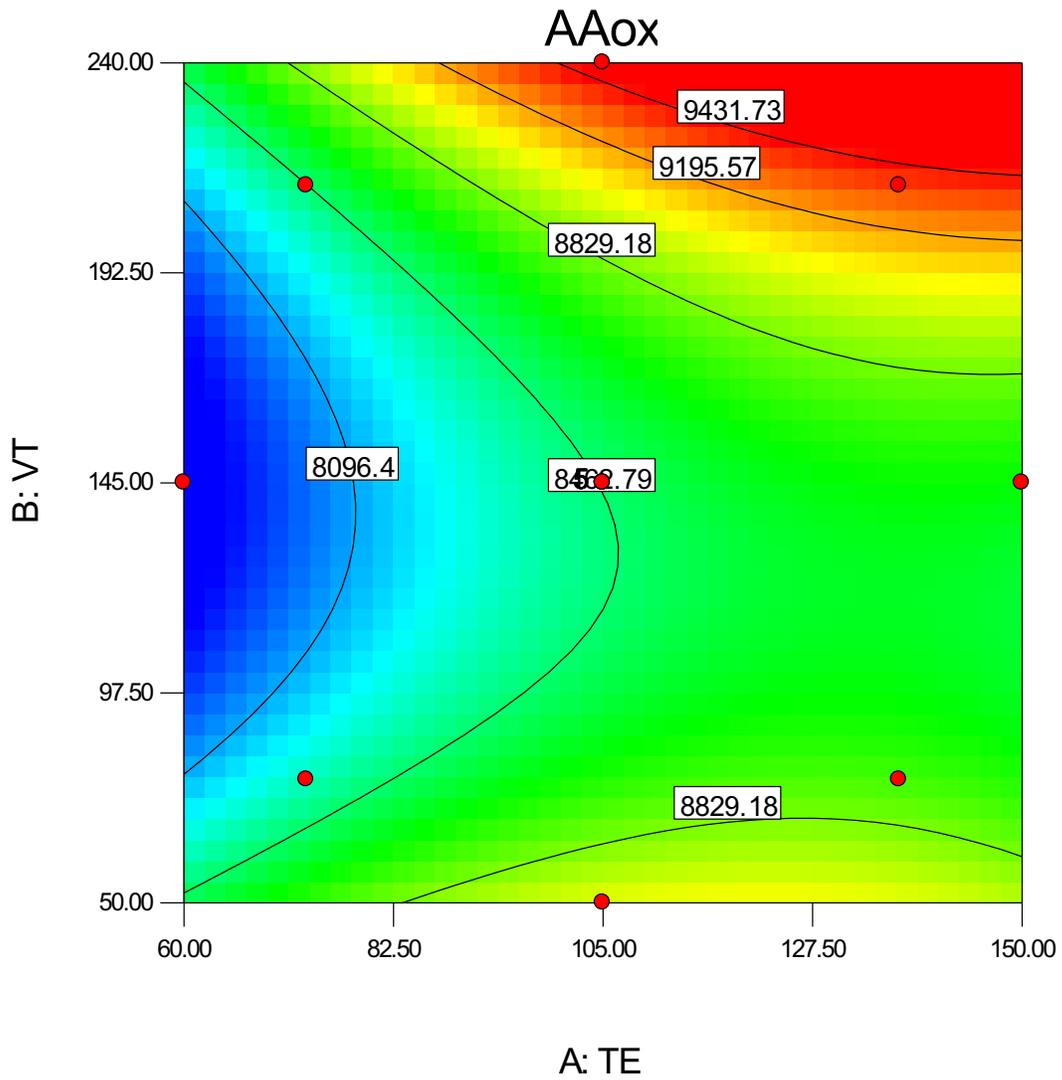
Los términos lineales de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo tuvieron un efecto significativo ( $p < 0.01$ ) sobre la AAox de las harinas de frijol tépari extrudido (HFTE). La interacción temperatura de extrusión x velocidad de tornillo no tuvo influencia significativa ( $p > 0.1$ ) sobre AAox de HFTE. Asimismo, el efecto cuadrático de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo fue significativo ( $p < 0.01$ ) dentro del modelo. El modelo de regresión para la AAox de las HFTE fue del orden cuadrático y presentó las siguientes expresiones:

Usando valores codificados:

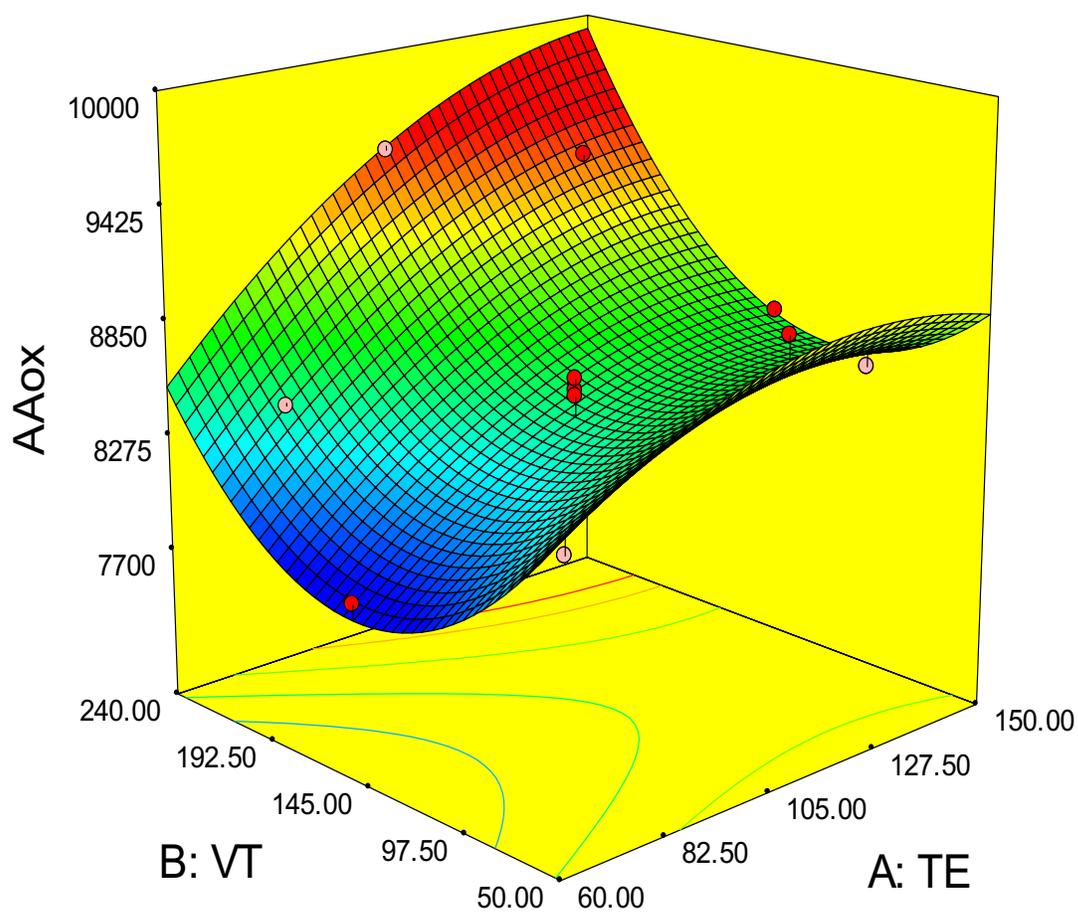
$$\text{AAox} = 8468.69 + 324.17\text{A} + 181.20\text{B} + 119.46\text{A*B} - 140.11\text{A}^2 + 393.13\text{B}^2$$

Usando variables originales:

$$\text{AAox} = 8164.76478 + 31.14471\text{TE} - 28.43580\text{VT} + 0.055888\text{TE*VT} - 0.13838\text{TE}^2 + 0.087121\text{VT}^2$$



**Figura 7. Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre la Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g, bs}$ ) de las harinas de frijol tépari extrudido.**



**Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre la Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g, bs}$ ) de las harinas de frijol tépari extrudido.**

El modelo de regresión para la AAox de las HFTE explicó el 96.48% de la variación total ( $p < 0.0001$ ) en los valores de actividad antioxidante. Las **Fig. 7 y 8** muestran la relación entre la temperatura de extrusión (TE) y velocidad de tornillo (VT) sobre la actividad antioxidante (AAox) de las HFTE. En ambas figuras se observa que al incrementar el TE y la VT la AAox incrementa. Los valores de AAox variaron desde 7,810 hasta 9,485  $\mu\text{mol ET/ 100 g, bs}$ .

### **c. Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)**

La temperatura de extrusión (TE) tuvo un efecto significativo ( $p < 0.01$ ), sobre el contenido de DPIV de las HFTE. El efecto de la interacción temperatura de extrusión x velocidad de tornillo no fue significativa ( $p > 0.1$ ). El efecto cuadrático de la temperatura de extrusión fue significativo ( $p < 0.01$ ). El modelo de regresión para el contenido de DPIV de las HFTE fue del orden cuadrático y presentó las siguientes expresiones:

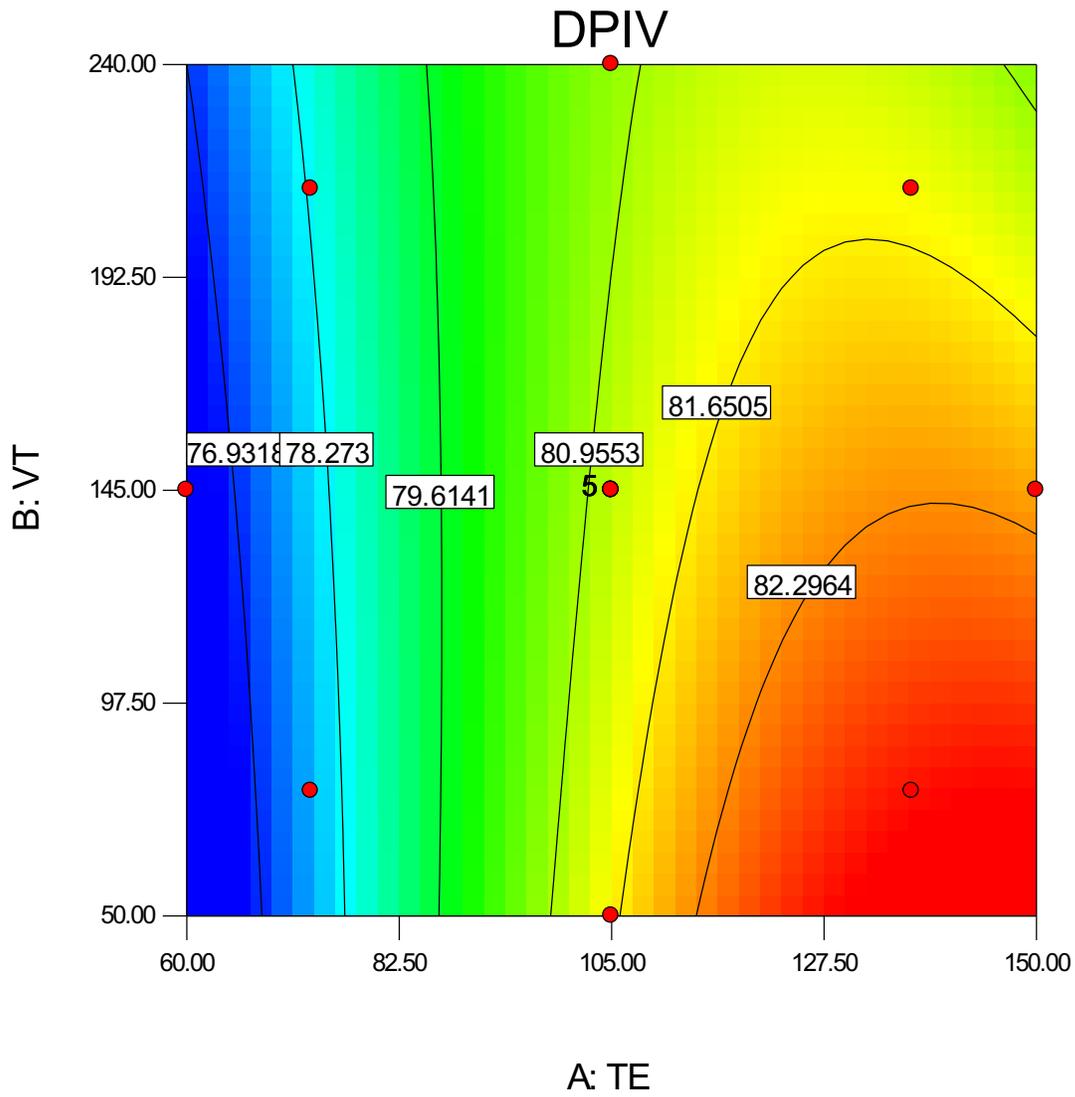
Usando valores codificados:

$$\text{DPIV} = 81.13 + 2.11A - 0.26B - 0.52A*B - 0.98A^2 + 0.038B^2$$

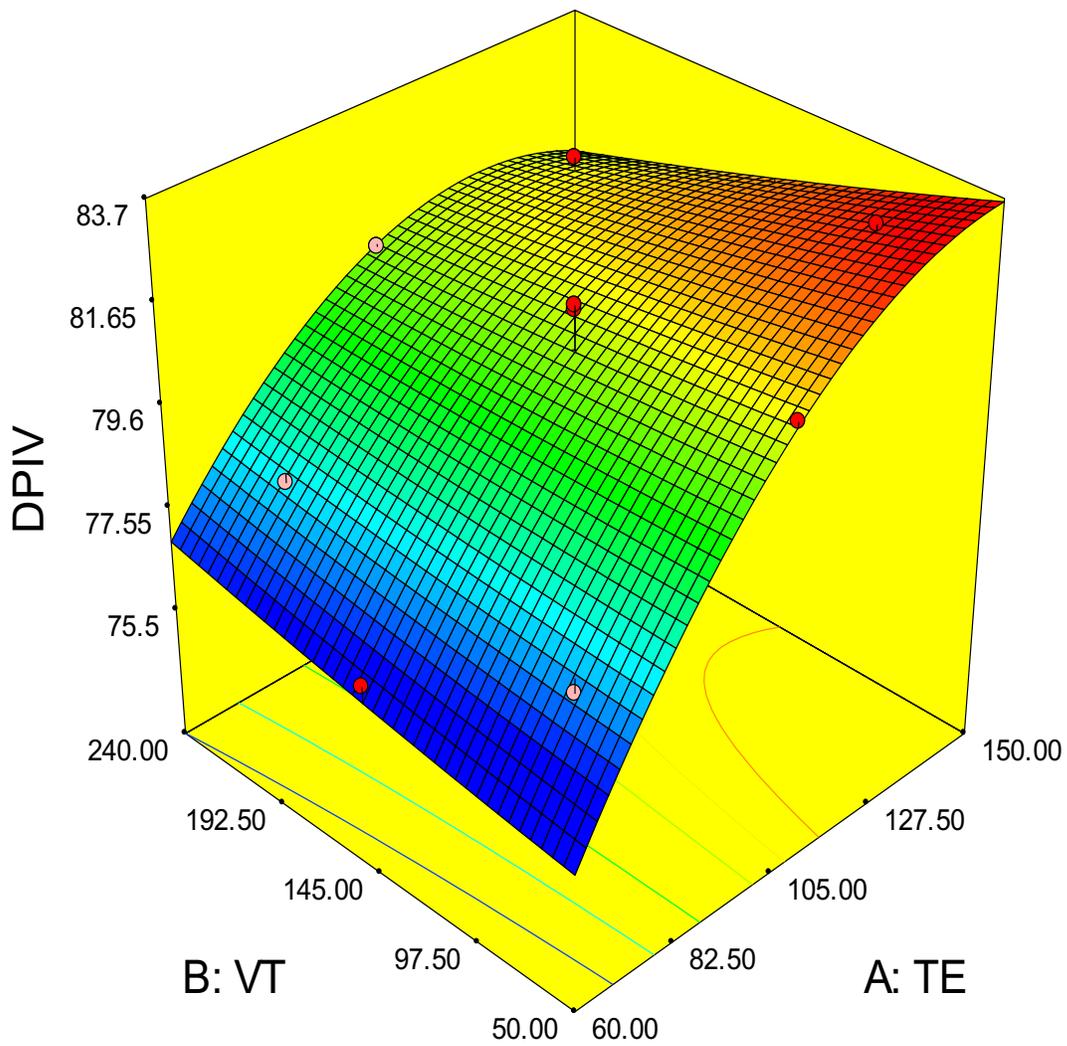
Usando variables originales:

$$\text{DPIV} = 60.53614 + 0.30479\text{TE} + 0.019198\text{VT} - 2.43450\text{E-}004\text{TE*VT} - 9.67642\text{E-}004\text{TE}^2 + 8.50693\text{E-}006\text{VT}^2$$

El modelo de regresión para el contenido de DPIV de las HFTE explicó el 94.34% de la variación total ( $p < 0.0003$ ) de los valores obtenidos para DPIV. Las **Fig. 9 y 10** muestran la relación entre la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo



**Figura 9. Grafica de contorno del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el porcentaje de Digestibilidad proteínica *in vitro* (%) de las harinas de frijol tépari extrudido.**



**Figura 10. Gráfico de superficie de respuesta del efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el porcentaje de Digestibilidad proteínica *in vitro* (%) de las harinas de frijol tépari extrudido.**

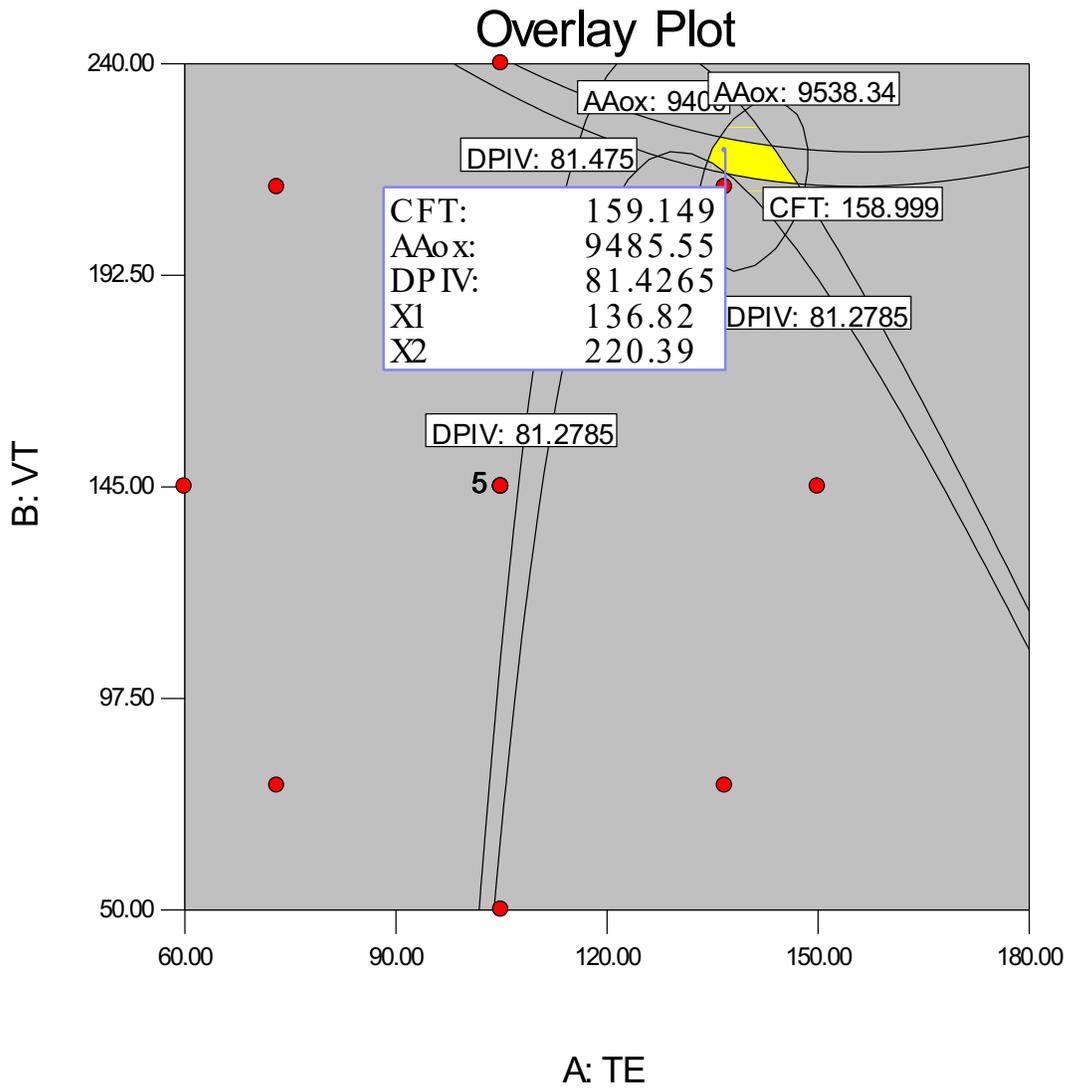
(VT) sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* de las HFTE. En ambas figuras se observa que al incrementar TE y disminuir la VT el contenido de DPIV incrementa. Los valores de las HFTE variaron desde 77.5 hasta 83.2 % DPIV.

## 2. Optimización del proceso de extrusión

Las **Fig. 5, 7 y 9** son gráficas de contorno que muestran el efecto de la temperatura de extrusión (TE) y la velocidad de tornillo (VT) sobre el contenido Compuestos fenólicos totales (CFT), Actividad antioxidante (AAox) y Digestibilidad proteínica *in vitro* de harinas de frijol tépari extrudido (HFTE), respectivamente. La superposición de estos gráficos de contorno generó la **Fig. 11**, cuyo punto central de la región de optimización corresponde a la combinación óptima de variables del proceso de extrusión (**TE=137°C, VT=220 rpm**) para obtener harina de frijol tépari extrudida optimizada (HFTEO) con valores máximos de CFT, AAox y DPIV. Con esta combinación de variables de proceso (137°C/220rpm) es posible predecir la obtención de los siguientes valores: CFT= 159 mg EAG/ 100 g, bs), AAox= 9,485  $\mu$ mol ET/ 100 g, bs y DPIV= 81.4%.

### C. COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE HARINA DE FRIJOL TÉPARI CRUDA (HFTC) Y OPTIMIZADA (HFTEO)

El **cuadro 5** muestra el contenido, en base seca (bs), de proteínas, lípidos, minerales, fibra dietaria total (FDT) y carbohidratos en frijol tépari crudo, los cuales fue de 20.13%, 2.03%, 3.69%, 11.96% y 65.87 %, respectivamente. La harina de frijol



**Figura 11. Región de superposición de gráficos de contorno con la mejor combinación de variables de proceso, para la producción de harina de frijol tépari extrudida optimizada.**

**Cuadro 5.** Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harina de frijol tépari crudo (HFTC).

Composición proximal (%bs)	HFTC <sup>1</sup>	HFTEO <sup>1</sup>
Proteína	20.13 ± 0.43 <sup>b</sup>	21.56 ± 0.33 <sup>a</sup>
Lípidos	2.03 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.02 <sup>b</sup>
Minerales	3.69 ± 0.00 <sup>b</sup>	4.11 ± 0.06 <sup>a</sup>
Fibra dietaria		
Soluble	0.86 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.17 ± 0.05 <sup>a</sup>
Insoluble	11.10 ± 0.03 <sup>a</sup>	10.34 ± 0.07 <sup>b</sup>
Total	11.96 ± 0.05 <sup>b</sup>	12.51 ± 0.12 <sup>a</sup>
Carbohidratos	65.87 ± 0.46 <sup>a</sup>	66.04 ± 0.41 <sup>a</sup>
<b>Fisicoquímicas</b>		
<b>Color</b>		
Valor Hunter "L"	84.43 ± 0.38 <sup>a</sup>	68.06 ± 1.16 <sup>b</sup>
Diferencia total de color	14.61 ± 0.17 <sup>b</sup>	30.83 ± 1.17 <sup>a</sup>
Actividad acuosa	0.36 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>a</sup>
pH	5.85 ± 0.006 <sup>b</sup>	6.19 ± 0.02 <sup>a</sup>
<b>Funcionales</b>		
Índice de absorción de agua <sup>2</sup>	5.83 ± 0.02 <sup>b</sup>	16.66 ± 0.31 <sup>a</sup>
Índice de solubilidad en agua <sup>3</sup>	20.21 ± 0.25 <sup>b</sup>	27.45 ± 1.62 <sup>a</sup>
Índice de absorción de aceite <sup>4</sup>	0.53 ± 0.05 <sup>b</sup>	2.46 ± 0.20 <sup>a</sup>
Dispersabilidad (%)	48.33 ± 2.88 <sup>b</sup>	60 ± 0.00 <sup>a</sup>
Formación de espuma (%)	31.82 ± 2.47 <sup>a</sup>	2 ± 0.00 <sup>b</sup>
Estabilidad de espuma (%)	15.73 ± 1.28 <sup>a</sup>	9.8 ± 0.00 <sup>b</sup>
Capacidad de emulsión (%)	58.75 ± 1.33 <sup>a</sup>	41.11 ± 1.92 <sup>b</sup>
Estabilidad de emulsión (%)	63.30 ± 0.89 <sup>b</sup>	84.56 ± 3.44 <sup>a</sup>
<b>Nutricional</b>		
Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (%)	75.25 ± 0.25 <sup>b</sup>	81.36 ± 0.25 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Las muestras se separaron por renglones, aplicando la prueba de rango múltiple de Duncan. Medias con la misma letra no son diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>2</sup>g gel/g muestra seca

<sup>3</sup>g de sólidos/ 100 g muestra seca

<sup>4</sup>ml de aceite absorbido/ g de muestra seca

tépari extrudido optimizado (**HFTEO**) presento contenidos en bs, de 21.56%, 0.76%, 4.11%, 12.51% y 66.04% respectivamente. González de Mejía y col (2005) y Salas-

López y col (2015) reportaron, en granos de frijol tépari crudo, contenidos en bs, de proteínas (18.76-20.44%), lípidos (1.04-2.63%), minerales (3.76-4.3%) y carbohidratos (61.99-69.08%) muy similares a los encontrados en la presente investigación.

El proceso de extrusión incremento el contenido de proteína (20.13 a 21.56%), minerales (3.69 a 4.11%) y FDT (11.96 a 12.51%); se observó una disminución en el contenido de lípidos (2.03 a 0.73%) y no hubo diferencia significativa en el contenido de carbohidratos (65.87 a 66.04%).

Rochín-Medina y col (2015) evaluaron el proceso de extrusión en una mezcla de maíz/garbanzo (TE=127°C, VT=151 rpm) encontrando un aumento de proteína (16.06 a 16.57%) y minerales (2.10 a 3.32%), disminución en el contenido de lípidos (6.06 a 3.87%) sin encontrar diferencia significativa en el contenido de carbohidratos (76.10 a 76.24%). El valor nutricional de la proteína generalmente se ve reforzado por condiciones de extrusión suaves, debido a un aumento en la digestibilidad. Probablemente el aumento del contenido de proteínas es resultado de la desnaturalización de las mismas e inactivación de inhibidores de enzimas presentes en alimentos vegetales crudos, que podrían exponer nuevos sitios para el ataque de enzimas (Singh y col., 2007). El aumento de minerales podría deberse a que el proceso de extrusión puede mejorar la absorción de minerales al reducir otros factores que inhiben la absorción. El fitato puede formar complejos insolubles con minerales y eventualmente afectar negativamente la absorción mineral. La extrusión hidroliza el fitato para liberar moléculas de fosfato. La extrusión en frijoles da como resultado la hidrólisis de fitatos, lo que explica la mayor disponibilidad de minerales después del procesamiento (Alonso y col., 2001).

Repo-Carrasco-Valencia y col., (2009) reportaron una disminución en fibra insoluble (13.92 a 6.91%) y aumento en fibra soluble (2.45 a 3.06%) en amaranto extrudido, explicando que podría deberse al esfuerzo cortante causado por la alta velocidad del tornillo y también a la alta temperatura. La exposición al estrés por cizallamiento y la alta temperatura causa la rotura del enlace químico, creando partículas más pequeñas que son solubles, teniendo así una transformación de algunos componentes de fibra insolubles en fibra soluble durante la extrusión.

Marzo y col., (2002) extrudieron frijol ( $TE=150^{\circ}C/VT=100$  rpm) encontrando una reducción en el contenido de lípidos, explicando que esto puede, en parte, atribuirse a la volatilización de estos compuestos durante el proceso de extrusión, como resultado de la alta temperatura dentro del canal del tornillo. Así mismo, Tovar-Hernández y col., (2017) reportando una disminución del contenido de grasa en las harinas de quinoa después del proceso de extrusión, atribuyendo dicha disminución a la temperatura y velocidad de tornillo empleadas en el extrusor lo cual probablemente ocasionó la degradación de los lípidos. De igual forma, los ácidos grasos presentes en el material pueden formar complejos con la amilosa, haciendo que su extracción sea más difícil lo cual podría ser la causa del descenso en el contenido graso.

Las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado, presentaron una actividad de agua de 0.36 a 0.38 respectivamente (**Cuadro 5**). Borijindakul y Yuthana Phimolsiripol (2013) reportaron valores similares en frijol lablad (0.24-0.58); valores por debajo de 0.6 hace al alimento muy estable al ataque de microorganismos, así como a la mayoría de las causas de deterioro físico, químico o biológico, lo cual significa una larga vida de anaquel.

Las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado, presentaron valores de diferencia total de color ( $\Delta E$ ) de 14.61 a 30.83 respectivamente (**Cuadro 5**). El proceso de extrusión causó un incremento ( $p \leq 0.05$ ) en el  $\Delta E$  de harina de frijol tépari crudo y disminución en el valor L (84.43 a 68.06); valores más altos de  $\Delta E$  y menores de L significa harinas más oscuras.

Rodríguez-Miranda y col., (2014) reportaron que los cambios de color en el proceso de extrusión en harina de frijol ( $TE=120-150^{\circ}C/VT=100$  rpm), se deben principalmente a las reacciones de Maillard. De hecho, las pérdidas significativas de lisina durante el proceso de extrusión se han observado debido a reacciones de oscurecimiento no enzimático.

En cuanto al pH, las harinas de frijol tépari crudo y extrudido presentaron valores de 5.85 y 6.19. Dzudie y col., (1996) reportaron valores de acidez en harinas de frijol negro y blanco crudos cultivados en Francia, con valores de 5.9 a 6.2 respectivamente. La determinación de pH en harinas es importante ya que algunas propiedades funcionales tales como solubilidad y propiedades de emulsión se ven altamente afectadas por cambios de pH.

Las propiedades funcionales se definen como "cualquier propiedad de un alimento o ingrediente alimenticio que afecte su utilización". Estas propiedades funcionales son importantes en la formulación y preparación de alimentos y pueden verse afectadas por muchos factores, como la estructura y la composición de las proteínas, el pH, la temperatura y la presencia de otros ingredientes. Las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado, presentaron valores de índice de absorción de agua (IAA) de 5.83 y 16.66 g gel/g muestra seca respectivamente, (**Cuadro 5**). Chel-Guerrero y col.,

(2002) reportaron en harinas de frijol lima crudo valores de IAA de 2.6 g gel/g muestra seca, recalando que dicho parámetro está estrechamente relacionado con las propiedades de los biopolímeros que constituyen este tipo de granos (almidón y proteína). El IAA está relacionado primordialmente con la cantidad de agua absorbida por los gránulos de almidón durante el proceso de extrusión, pudiendo ser utilizado indirectamente con el grado de gelatinización del mismo (Rodríguez- Miranda y col., 2014; Bisharat y col., 2013). El IAA también se relaciona con el balance hidrofílico de las proteínas presentes en la harina, el cual cambia en función del grado de desnaturalización de las mismas, donde por efecto del proceso de extrusión se cambian los perfiles de solubilidad de estas (Singh y col., 2007). El IAA en extrudidos a base de frijol, oscila generalmente entre 2.0 y 4.6; los resultados de IAA de este trabajo, se encuentran por arriba del promedio, pudiéndose atribuir al contenido de humedad de extrusión (24%), la desnaturalización de proteínas, gelatinización del almidón e hinchamiento de la fibra cruda, que ocurren durante la extrusión.

Los valores de índice de solubilidad de agua (ISA) fue de 20.21 y 27.45 g de sólidos/100 g muestra seca, para harinas de frijol tépari crudo y extrudido. De acuerdo a lo reportado en la literatura, el índice de solubilidad de agua (ISA), puede variar entre 11.8 a 35 g de sólidos/100 g muestra seca, en extrudidos de frijol, donde el contenido de almidón es bajo y el de proteína alto (Singh y col., 2006). El ISA está directamente relacionado con el grado de gelatinización del almidón que se produce dentro del extrusor (Rodríguez-Miranda y col., 2011; Bisharat y col., 2013). En general, ISA aumenta a medida que aumenta la temperatura, debido a la despolimerización del almidón y de otras macromoléculas presentes en la harina, dicho efecto también debe de aplicarse para el tamaño molecular de las proteínas. El aumento de ISA, puede ser

atribuido a que, durante el proceso de extrusión a altas temperaturas, el almidón sufre una mayor degradación y puede alcanzar una dextrinización mayor, reduciendo los valores del radio de expansión, acentuándose en harinas con bajo contenido de almidón (Rodríguez-Miranda y col., 2014).

El índice de absorción de aceite (IAAc) de las harinas de frijol tépari crudo y extrudido fue de 0.53 y 2.46 ml de aceite absorbido/g muestra seca respectivamente (**Cuadro 5**). Audu y col., (2014) reportaron valores de absorción de aceite de 0.9 ml de aceite/g muestra para frijol harinas de frijol pinto crudo; Siddiq y col., (2010) reportaron valores superiores en harina de frijol rojo crudo de 1.5 ml de aceite absorbido/g muestra seca, así como Borijindakul y Phimolsiripol (2013) en harinas de frijol lablab crudo 6.29 ml de aceite absorbido/g muestra seca. La habilidad de los productos alimenticios para captar aceite es una cualidad importante, debido a que mejora la retención de sabor y aroma, además de proporcionar una mayor sensación gustativa en algunos tipos de alimentos. El mecanismo de absorción de aceite puede explicarse como un atrapamiento físico del aceite relacionado con las cadenas laterales no polares de las proteínas (Salas-López, 2015).

El porcentaje de dispersabilidad para las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado fue de 48.33 y 60.00 respectivamente (**Cuadro 5**). Las harinas de frijol tépari extrudido tuvieron valores mayores ( $p \leq 0.05$ ) a las harinas de frijol tépari crudo. Arguelles-López (2012) reportó valores menores en harinas de frijol azufrado crudo y extrudido con 26.66 y 38.33 % de dispersabilidad. Milán-Carrillo y col., (2000) encontraron un aumento significativo (38.7-145%) en los valores de dispersabilidad en harinas de garbanzo en garbanzo extrudido. Esta propiedad es de utilidad para la

formulación de bebidas ya que es un medio de comparación de la solubilidad de una proteína en agua. El valor de dispersabilidad se ha correlacionado, de manera indirecta, al grado de desnaturalización de las proteínas de un alimento procesado; un valor de dispersabilidad alto, indica una menor desnaturalización de las proteínas (Salas-López, 2015). Los resultados obtenidos en el presente trabajo, indican que el proceso de extrusión afectó ligeramente la desnaturalización de las proteínas.

Las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado presentaron porcentajes de formación de espuma de 31.82 y 2.00 % y estabilidad de espuma de 15.73 y 9.8% respectivamente (**Cuadro 5**). Batista y col., (2010) evaluaron el porcentaje de formación de espuma en frijol caupi crudo y extrudido (51.16 a 0.00%) encontrando ausencia, tras el proceso de extrusión (TE=150°C/VT=150rpm). Dichos investigadores atribuyeron esta ausencia a que la alta temperatura utilizada en el proceso de extrusión probablemente afectó las características moleculares y fisicoquímicas de los componentes responsables de la formación de espuma. El efecto de la temperatura en la reducción de la formación de espuma ha sido reportado por otras variedades de frijoles (Obatolu y Cole, 2000). Heywood y col., (2002) evaluaron propiedades funcionales en harina de soya cruda y extrudida obteniendo una disminución tras la extrusión (TE:175°C/VT=300rpm). La formación de espuma es una medida del nivel máximo de espuma generado por una solución, mientras que la estabilidad de espuma es una medida de la resistencia de la espuma a la desestabilización.

La capacidad de emulsión es una medida del área de interfaz que se estabiliza por unidad de peso de proteína, mientras que la estabilidad de emulsión es una medida de la resistencia de la emulsión a la descomposición (Heywood y col., 2002). Las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado presentaron valores de capacidad

de emulsión de 58.75 y 41.11% así como estabilidad de emulsión de 63.30 y 84.56% respectivamente (**Cuadro 5**). El proceso de extrusión causó un decremento en la capacidad de emulsión y un incremento en la estabilidad de emulsión. Se sabe que las propiedades emulsionantes de las harinas están influenciadas por la calidad y la cantidad de proteínas solubles (Siddiq y col., 2010). La desnaturalización de proteínas causada por el proceso de extrusión puede haber producido la agregación y alteración de las propiedades físicas de las proteínas de tal manera que afectaron la capacidad emulsionante. Esto puede explicar la reducción del 30% en la capacidad emulsificante de la harina de frijol tépari extrudido. Batista y col., (2010) reportaron el mismo comportamiento en harina de frijol caupi crudo y extrudido (54.21 y 50%) encontrando una disminución del 7.8% en la capacidad de emulsión de caupi extrudido (TE=150°C/VT=150rpm).

La digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) observada en la presente investigación tuvo un valor promedio de 75.25%, dicho valor se encuentra comprendido dentro del rango de valores reportados por otros autores. Abd-El-Hady y Habiba (2003) reportaron para frijol común Kidney 70.69%. González de Mejía y col., (2003) reportaron valores de DPIV de 75.19 y 75.61% en dos genotipos de frijol tépari cultivado en Sonora.

Las condiciones optimizadas de extrusión aplicadas en frijol tépari generaron un aumento significativo en la digestibilidad proteínica *in vitro* (75.25 % vs 81.36%) (**Cuadro 5**). El valor de digestibilidad de la proteína de los productos extruidos es mayor que los productos sin extrusión. La posible causa podría ser la desnaturalización de proteínas y la inactivación de factores antinutrimientales que dificultan la digestión

(Singh y col., 2007). Milán-Carrillo y col., (2000) evaluaron el porcentaje de DPIV en garbanzo crudo y extrudido observando un aumento significativo ( $P \leq 0.05$ ) de 67.7 y 82.4% respectivamente bajo condiciones de extrusión de  $TE=150^{\circ}C$  y  $VT=189.5$  rpm. Ellos atribuyeron que la mejora en los valores de DPIV podría estar relacionada con la eliminación de factores indeseables, como los taninos durante el descascarillado, la alta temperatura y alta presión del proceso de cocción por extrusión. Este proceso de cocción provoca la inactivación de factores antinutrimientales como las lectinas y los inhibidores de la tripsina, y la desnaturalización de las proteínas, lo que las hace más vulnerables a la acción enzimática.

Alonso y col (2000), observaron un incremento en la digestibilidad proteínica *in vitro* de frijol común crudo y extrudido de 68.1 a 83 % respectivamente, usando como condiciones de extrusión  $TE=156^{\circ}C/VT=100$  rpm. De la misma forma Abd-El-Hady y Habiba (2003) observaron un aumento en la DPIV en harinas de frijol crudo y extrudido de 76.0 a 80.40% aplicando un tratamiento de extrusión de  $TE=140^{\circ}C/VT=250$ rpm. Ellos atribuyen que la mejora de la digestibilidad de las proteínas después del procesamiento de extrusión se debe a la reducción o eliminación de diferentes antinutrientes. Se sabe que el ácido fítico, así como los taninos condensados y los polifenoles, interactúan con la proteína para formar complejos. Esta interacción aumenta el grado de reticulación, disminuyendo la solubilidad de las proteínas y haciendo que los complejos proteicos sean menos susceptibles al ataque proteolítico que la misma proteína sola.

#### **D. FACTORES ANTINUTRIMENTALES DE HARINAS DE FRIJOL TÉPARI CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO (HFTEO)**

Los factores antinutrimientales se pueden encontrar en las semillas de las leguminosas, teniendo efectos negativos sobre la composición nutricional de los alimentos por disminuir la disponibilidad de algunos nutrientes (Kaur y col., 2015). El contenido de fitatos, inhibidores de tripsina, taninos y saponinas en las harinas cruda y extrudida se muestra en el **Cuadro 6**.

El contenido de ácido fítico obtenidos en esta investigación para harinas de frijol tépari crudo fueron 6.97 mg Eq fitato de sodio/g muestra. Valores mayores fueron reportados por Abd- El-Hady y Habiba (2003) con 11.03 mg Eq fitato de sodio/g en frijol común Kidney y 8.21 mg Eq fitato de sodio/g en garbanzo crudo. Las concentraciones de los factores antinutrimientales en las leguminosas están determinadas por el efecto genético y ambiental, ya que, aunque se encuentren presentes en variedades de una misma especie o género, no se hallan en la misma concentración. Generalmente, el ácido fítico es resistente a los tratamientos térmicos, pero existen reportes que demuestran una disminución significativa debido al proceso de extrusión.

El proceso de extrusión de las harinas de frijol tépari extrudido optimizado provoco disminución significativa cercana al 38% en niveles del ácido fítico (6.97 a 4.30 mg/g). Alonso y col., (2000) reportaron un decremento del 20.7% en el contenido de ácido fítico de frijol común bajo condiciones de extrusión de  $TE=156^{\circ}C/VT=100rpm$ , estos autores informan que un análisis por HPLC (Sandberg y col., 1987) reveló que, durante

---

**Cuadro 6.** Factores Antinutrimientales de harina de frijol tépari crudo (HFTC) y optimizado (HFTEO).

<b>Factor</b>	<b>HFTC</b>	<b>HFTEO</b>
Ácido Fítico <sup>1</sup>	6.97 ± 0.34 <sup>a</sup>	4.30 ± 1.66 <sup>b</sup>
Inhibidores de Tripsina <sup>2</sup>	1.65 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.03 <sup>b</sup>
Taninos <sup>3</sup>	380.40 ± 2.50 <sup>a</sup>	52.30 ± 1.71 <sup>b</sup>
Saponinas <sup>4</sup>	478.15 ± 13.87 <sup>a</sup>	415.65 ± 2.12 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>mg Eq Fitato de Sodio/ g muestra

<sup>2</sup>Unidades inhibitorias de tripsina/mg muestra

<sup>3</sup>mg ECA/100 g muestra, bs

<sup>4</sup>mg Eq Diosgenina/100 g muestra, bs

la extrusión, algunas moléculas de hexafosfato de inositol se hidrolizaban a penta-, tetra y trifosfatos, ocasionando la degradación de estos compuestos. Así mismo,

Rathod y AnnaPure (2016) informaron una disminución del 95% (1.1435 a 0.052 mg/g) en lentejas extrudidas a una temperatura de extrusión de 140°C, velocidad de tornillo de 250 rpm y humedad del 22%. Ellos atribuyeron que la degradación térmica de estas moléculas, así como los cambios en su reactividad química o la formación de complejos insolubles, podrían explicar la reducción significativa de ácido fítico mediante el procesamiento térmico.

La actividad inhibitoria de tripsina encontrada en el frijol tépari crudo presento un valor promedio de 1.65 UIT/mg, valores mayores fueron reportados por González de Mejía y col., (2005) en dos variedades de frijol tépari (blanco: 11.5 UIT/mg y negro: 12.8 UIT/mg. Cabrera-Orozco (2011) realizo un estudio en 10 variedades de frijol común reportando que las unidades de tripsina inhibidas (UTI) oscilaron entre 5.97 y 8.40 UIT/mg.

Las condiciones optimizadas (TE=137°C/VT=220rpm) del proceso de extrusión de frijol tépari disminuyeron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el contenido de inhibidores de tripsina de 1.65 a 0.60 UIT/mg, esto representó una reducción del 64% en la actividad de inhibidores de tripsina, esto pudo deberse a que los inhibidores de tripsina son proteínas termolábiles por lo que ocurre una desnaturalización durante el proceso de extrusión ocasionando la pérdida de su actividad (Cabrera-Orozco, 2011). Marzo y col., (2002) reportaron una disminución del 93% en el contenido de inhibidores de tripsina en frijol común crudo y extrudido (8.16 a 0.52 UIT/mg) bajo condiciones de extrusión de TE=150°C y VT=100rpm. De igual manera Rathod y AnnaPure (2016) reportaron una disminución del 98% en lentejas (2.82 a 0.044 UIT/mg) bajo condiciones de extrusión (TE=140°C/VT=250rpm) ellos atribuyen el decremento a las reacciones que implican la desaminación de los enlaces covalentes, como la hidrólisis de enlaces

peptídicos en los residuos de ácido aspártico, y el intercambio o la destrucción de enlaces disulfuro, ocasionando la inactivación térmica. Así mismo explican el papel del contenido de humedad para la inactivación del inhibidor de tripsina, observando que en este estudio el aumento en el contenido de humedad durante el proceso de extrusión causó el aumento en la eliminación del inhibidor de tripsina.

La harina de frijol tépari crudo presento un contenido de taninos condensados de 380.40 mg ECA/100g muestra, bs, estos valores están dentro del rango de lo reportado por González de Mejía y col., (2005) los cuales obtuvieron valores para taninos de 300.7 y 439.3 mg ECA/100g de frijol tépari crudo blanco y negro respectivamente. Este rango en el contenido de taninos fue reportado por Alonso y col., (2000) en frijol común (359 mg ECA/100g). Cabrera-Orozco (2011) evaluó el contenido de taninos condensados en 10 variedades de frijol común, las concentraciones detectadas oscilaron en un intervalo de 62.23 a 1201.8 mg ECA/100g. Una gran cantidad de taninos está relacionada con variedades más coloreadas y también con propiedades antioxidantes y mutagénicas.

El proceso de extrusión causó una remoción del 86% del contenido de taninos en frijol tépari crudo (380.40 vs 52.30 mg ECA/g). los resultados de esta investigación concuerdan con lo reportado por Alonso y col., (2000) los cuales detectaron una disminución en el contenido de taninos condensados de 359 a 5.8 mg ECA/g, esto representó un decremento del 98% en frijol común crudo y extrudido (TE=156°C/VT=100rpm). Ellos atribuyen dicha disminución a la degradación térmica de estas moléculas, así como los cambios en su reactividad química o la formación de complejos insolubles, podrían explicar la reducción significativa de los antinutrientes mediante el procesamiento térmico.

Marzo y col., (2002) detectaron una disminución en el contenido de taninos condensados de 1.22 a 0.28 mg ECA/g, en frijol pinto (TE=150°C/VT=100rpm) esto representó una disminución del 75%, así mismo, Sánchez-Magaña (2008) observó una disminución del 77% en el contenido de taninos en frijol azufrado higuera crudo y extrudido (TE=163.5°C/VT=188.4rpm). Dichos autores atribuyen la disminución de taninos condensados en frijol a las altas temperaturas de extrusión la cual puede afectar la estructura molecular de taninos condensados. Esta modificación química puede alterar la solubilidad de los taninos o la reactividad química.

El contenido de saponinas para las harinas de frijol tépari crudo y extrudido optimizado fue 478.15 y 415.65 mg eq Diosgenina/100g, muestra. Las saponinas son compuestos que poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos, son glucósidos que determinan en gran parte el sabor amargo de algunas semillas. Cabrera-Orozco (2011) evaluó el contenido de saponinas en diferentes variedades de frijol común encontrando rangos de 279.4 a 513.8 mg eq diosgenina/100g. La concentración de saponinas se redujo significativamente como resultado del proceso de extrusión en un 13%. El proceso térmico en leguminosas reduce la cantidad de saponinas en un 7-53%. La diferencia en la pérdida de saponina en las leguminosas se puede atribuir a la estructura de la semilla (Shi y col., 2004). En base a la estructura de su aglicona, las saponinas pueden ser clasificadas en tres grupos, saponinas del grupo A, B y E. Las principales saponinas en leguminosas son las del grupo B, estas tienen como aglicona al sapogenol B. Las saponinas B son monodesmosidicas, ya que tienen una cadena de azúcar ligada en la posición C-3 de sus agliconas (sapogenol B)

con un átomo de hidrogeno en posición C-21. Los tratamientos térmicos tienen un gran efecto en la degradación de saponinas de leguminosas; ya que el enlace en la posición C-3 del sapogenol B y la cadena de azúcar se rompe, generando como productos una aglicona y una cadena de azúcar, si el procesamiento se lleva acabo a altas temperaturas, los esqueletos de aglicona también pueden descomponerse, como resultado de una mayor aplicación de energía (Heng y col., 2006).

#### **E. ANÁLISIS FITOQUÍMICO POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC) DE HARINAS DE FRIJOL TÉPARI CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO (HFTEO)**

El **cuadro 7** muestra los resultados del análisis fitoquímico realizado a los extractos acuoso, metanólico, etanólico y clorofórmico de las harinas de frijol tépari crudo y extrudido. La identificación cualitativa de los metabolitos secundarios se realizó a través de reacciones en tubo y cromatografía en capa fina (TLC). El extracto etanólico de la harina de frijol tépari crudo destacó la presencia de alcaloides, saponinas y triterpenos (moderadamente: ++) y flavonoides y taninos (bajo: +). Asante y col., (2016) reportaron la presencia en extractos metanólico de alcaloides, flavonoides, saponinas y terpenos en cuatro variedades de frijol. Ellos concluyeron que la presencia de los diferentes metabolitos secundarios puede tener algún nivel de actividad medicinal; por ejemplo, los alcaloides tienen multiplicidad de actividades biológicas mediados por el huésped, incluyendo actividad antimicrobiana (Tylor, 2011), citotóxica (Hanita y col., 2013), analgésicas y antipiréticas (Semwal y col., 2011). Los flavonoides tienen propiedades antibacterianas (Elzbieta y col., 2013), antioxidante (Magdalena y col., 2013), anticancerígena (Ali y col., 2013), actividad antiinflamatoria, antipirética y

analgésicas (Emad, 2013). Las saponinas presentan propiedades farmacológicas, como actividad antiinflamatoria y antipirética (Adiukwu y col., 2013). Se ha informado que los terpenos tienen actividad antimicrobiana, antioxidante (Sankhadip y col., 2010), anticancerígena (Chonthicha y col., 2013) y antiparasitaria (Ifedaya y col., 2013).

Por otro lado, la harina de frijol tépari extrudido destacó la presencia en el extracto etanólico de triterpenos (abundante: +++), flavonoides, saponinas (moderado: ++) y alcaloides, taninos (bajo: +). El extracto metanólico destacó la presencia de triterpenos (moderado: ++) y taninos, flavonoides y saponinas (bajo: +). Los extractos acuoso y clorofórmico destacaron la presencia de manera baja (+) de taninos condensados. Debido al proceso de extrusión aplicado a las harinas de frijol tépari, nuestros resultados y los reportados en esta literatura, no nos permiten hacer comparaciones entre los materiales estudiados. En la revisión de la literatura científica no se encontraron reportes de este tipo de análisis de fitoquímicos para extractos de harina de frijol tépari extrudido.

#### **F. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y NIVELES DE FITOQUIMICOS DE HARINAS DE FRIJOL TÉPARI CRUDO (HFTC) Y EXTRUDIDO OPTIMIZADO (HFTEO)**

El contenido de compuestos fenólicos totales en frijol tépari crudo y extrudido fue de 116.34-128.36 mg EAG/100 g muestra, bs y 159.2-167.42 mg EAG/100 g muestra, bs respectivamente (**Cuadro 8**). El proceso de extrusión incremento ( $p \leq 0.05$ ) el contenido

**Cuadro 7.** Análisis fitoquímico de la harina de frijol tépari crudo (HFTC) y Optimizado (HFTEO).

<b>Fitoquímico</b>	<b>Extracto</b>
--------------------	-----------------

	Acuoso		Etanólico		Metanólico		Clorofórmico	
	HFTC	HFTEO	HFTC	HFTEO	HFTC	HFTEO	HFTC	HFTEO
<b>Alcaloides</b>	-	-	++	+	-	-	-	-
<b>Flavonoides</b>	-	-	+	++	-	+	-	-
<b>Taninos</b>	-	+	+	+	-	+	-	+
<b>Saponinas</b>	-	-	++	++	-	+	-	-
<b>Triterpenos/ esteroides</b>	-	-	-	+++	-	++	++	-
<b>Derivados antracénicos</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cumarinas volátiles</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cardiotónicos</b>	-	-	-	-	-	-	-	-

El contenido se estimó como: Abundante (+++), moderado (++) , bajo (+) y ausencia (-).

de compuestos fenólicos libres, ligados y totales de harina de frijol tépari crudo en un 25%, 37% y 33 % respectivamente. En la harina de frijol tépari crudo los compuestos

fenólicos ligados fueron los mayores contribuyentes al contenido total (70%) de igual manera para la harina extrudida (72%). El aumento en los compuestos fenólicos de la harina extrudida pudo haber sido consecuencia de altas temperaturas, estrés hídrico y acción de cizallamiento y en parte a la presencia de productos de la reacción de Maillard de mayor peso molecular, que se forman a temperaturas más altas y actúan como antioxidantes (Reyes y col., 2007).

Heiras-Palazuelos (2013) evaluó el contenido de compuestos fenólicos totales en garbanzo desi crudo y extrudido, reportando un incremento del 5.3% bajo condiciones de extrusión de TE=155°C y VT=240 rpm, este incremento fue atribuido a la liberación de fitoquímicos ligados durante el procesamiento.

Korus y col., (2007) reportaron un incremento del 14% en el contenido de CFT de frijol común crudo y extrudido (TE=120°C/VT=90rpm) ellos sugiriendo que el agua probablemente protege a los compuestos fenólicos durante la extrusión. Teniendo un efecto beneficioso el mayor contenido de humedad en la materia prima sobre el grado de retención de compuestos fenólicos.

También indicaron que estos fenoles están normalmente asociados con las paredes celulares de las plantas, y el tratamiento de extrusión podría hidrolizar estos límites, aumentando su extracción.

Morales y col., (2015) reportaron un aumento del 11% (468 a 518 mg EAG/100g) en formulaciones de lentejas crudas y extrudidas (TE=160°C/VT=500rpm) en el contenido

**Cuadro 8.** Actividad antioxidante y niveles de fitoquímicos de harina de frijol tépari crudo (HFTC) y optimizado (HFTEO).

Propiedad	HFTC	HFTEO
<b>Compuestos fenólicos <sup>1</sup></b>		
Libres	36.74 ± 2.11 <sup>b</sup>	45.79 ± 1.52 <sup>a</sup>
Ligados	85.61 ± 3.90 <sup>b</sup>	117.52 ± 2.59 <sup>a</sup>
Total	<b>122.35 ± 6.01<sup>b</sup></b>	<b>163.31 ± 4.11<sup>a</sup></b>
<b>Flavonoides<sup>2</sup></b>		
Libres	20.16 ± 1.47 <sup>a</sup>	17.11 ± 0.98 <sup>b</sup>
Ligados	69.67 ± 2.49 <sup>a</sup>	34.38 ± 1.30 <sup>b</sup>
Total	<b>89.83 ± 3.96<sup>a</sup></b>	<b>51.49 ± 2.28<sup>b</sup></b>
<b>Capacidad antioxidante (ABTS)<sup>3</sup></b>		
Fitoquímicos Libres	1125.21 ± 46.14 <sup>b</sup>	2780.86 ± 131.30 <sup>a</sup>
Fitoquímicos Ligados	5019.28 ± 55.80 <sup>b</sup>	6819.43 ± 95.34 <sup>a</sup>
Total	<b>6144.49 ± 101.94<sup>b</sup></b>	<b>9600.29 ± 226.64<sup>a</sup></b>

<sup>1</sup>Suma de compuestos fenólicos libres y ligados, en mg EAG/ 100 g, bs

<sup>2</sup>Suma de flavonoides libres y ligados, mg Catequina/100 g, bs

<sup>3</sup>Actividad antioxidante total (suma de capacidad antioxidante de fitoquímicos libres y ligados) en µmol TE/ 100 g, bs.

de compuestos fenólicos totales explicando que el proceso de extrusión podría alentar la descarboxilación fenólica debido a la alta temperatura del barril y el alto contenido de humedad, lo que puede promover la polimerización de fenoles y taninos. El aumento en las fracciones fenólicas mencionadas anteriormente podría explicarse por el posible efecto del proceso de extrusión para inducir la hidrólisis de restos de fibra y/o proteínas unidas a polifenoles, cambiando de polifenoles no extraíbles a polifenoles extraíbles.

El contenido de flavonoides totales en frijol tépari crudo y extrudido fue de 81.46-85.87-93.79 y 49.21-52.77 mg equivalentes de catequina (ECA)/100 g muestra, bs, respectivamente. En las harinas de frijol tépari crudo los flavonoides ligados contribuyeron con 78% al contenido de flavonoides totales (**Cuadro 8**). De igual manera en las harinas de frijol tépari extrudido, los flavonoides ligados contribuyeron con 67% al contenido de flavonoides totales. En esta investigación se observó que el proceso de extrusión frijol tépari disminuyó ( $p \leq 0.05$ ) el contenido de flavonoides libres, ligados y totales en un 15%, 51%, y 43% respectivamente, en comparación con el grano sin procesar. Estas pérdidas pudieran deberse principalmente a la temperatura de procesamiento y al contenido de humedad (Brennan y col., 2011). Así mismo, la alta acción de cizallamiento con alta temperatura dentro del cilindro del extrusor cambia la estructura de las matrices de alimentos al afectar la funcionalidad de los fitoquímicos en los productos extrudidos (Nayak y col., 2015).

Morales y col., (2015) reportaron una disminución significativa ( $p \leq 0.05$ ) de aproximadamente 62-82% en lentejas control y extrudidas respectivamente, después del tratamiento de extrusión. Esto reveló la sensibilidad de los flavonoides a las

condiciones de procesamiento de extrusión utilizadas en este estudio (TE=160°C/VT=500rpm).

La capacidad antioxidante total (suma de actividad antioxidante de fitoquímicos libres y ligados) se determinó empleando la metodología de ABTS obteniendo valores para el grano de frijol tépari crudo de 6144.49  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox (TE)/100 g muestra, respectivamente (**Cuadro 8**). La AAox de la harina de frijol tépari extrudido optimizado fue 9600.29  $\mu\text{mol}$  ET/100 g muestra. En grano crudo la mayor contribución a la AAox correspondió a los fitoquímicos ligados (82%) así mismo para la HFTEO correspondió a los fitoquímicos ligados (71%). El proceso de extrusión incrementó ( $p \leq 0.05$ ) un 56% la AAox evaluada por el método ABTS. Las propiedades antioxidantes generales de los alimentos extrudidos se pueden mantener o incluso mejorar mediante el desarrollo de nuevos antioxidantes, como los productos de reacción de Maillard o el pardeamiento no enzimático que puede transformar los antioxidantes en productos activos (Pokorny y Schmidt, 2006). Esto está influenciado por muchos factores, incluida la concentración de reactantes, la temperatura, el tiempo y la actividad del agua. La reacción de Maillard producida a partir de un sistema modelo de aminoácido-azúcar se ha asociado con la formación de compuestos con una gran capacidad antioxidante (Stojceska y col., (2009).

Chiu y col., (2012) evaluaron la actividad antioxidante por el método de ABTS encontrando un aumento de 21.36% a 80.08% en maíz crudo y extrudido, bajo las siguientes condiciones de extrusión: TE=105°C/VT=300rpm. En este estudio, la mejora en la actividad antioxidante se debió muy probablemente a la formación de antioxidantes derivados de la reacción de Maillard. Los productos formados en la reacción de Maillard (PRM), incluyen compuestos aromáticos, productos intermedios

absorbentes de ultravioletas y compuestos poliméricos oscuros (Kim y Lee 2009). Se ha demostrado que los PRM están relacionados con la formación de compuestos con fuertes actividades antioxidantes a partir de varios sistemas modelo de amino-azúcar (Liu y col., 2010). La extrusión es el proceso que conjuga las condiciones térmicas/humedad, lo que permite la reacción de Maillard y el desarrollo de la caramelización. Por lo tanto, la extrusión produce la destrucción de compuestos antioxidantes lábiles térmicamente y también conduce a la formación de PRM antioxidantes (Rufián-Henares y Delgado-Andrade 2009).

## IX. CONCLUSIONES

1. La mejor combinación de variables del proceso de extrusión para producir harina de frijol tépari extrudida optimizada (HFTEO) con los valores mayores de **CFT** (163.31 mg EAG/100 g, bs), **AAox** (ABTS= 9,600.29  $\mu$ mol ET/100 g, bs) y **DPIV** (81.36%) fue: **TE**=137°C y **VT**=220 rpm.
2. El proceso de extrusión incrementó ( $p<0.05$ ) el contenido de proteínas (7%), minerales (11%) y disminuyó el contenido de lípidos (62%) en las semillas de frijol tépari. El contenido de FDS se incrementó en 152% y disminuyó el contenido de FDI en 7%, sin embargo, la FDT se incrementó en 5% después del proceso de extrusión.
3. La HFTEO tuvo mayor ( $p<0.05$ ) índice de absorción de agua (16.66 vs 5.83 g gel/g muestra seca), índice solubilidad de agua (27.45 vs 20.21 g de sólidos/100 g muestra seca), índice de absorción de aceite (2.46 vs 0.53 ml de aceite absorbido/g de muestra seca), dispersabilidad (60 vs 48.33%) y estabilidad de emulsión (84.56 vs 63.30%) que la harina de frijol tépari crudo. La harina de frijol tépari extrudida, con características nutricionales y tecnológicas mejoradas, se puede utilizar en una variedad de productos a base de frijol o en mezcla con otros alimentos para mejorar las propiedades funcionales y la calidad nutricional.

4. El proceso de extrusión redujo ( $p < 0.05$ ) el contenido de ácido fítico (38%), inhibidores de tripsina (63%), taninos (86%) y saponinas (13%) los cuales son considerados factores antinutrimientales.
  
5. Las HFTC y HFTEO muestran la presencia moderada de alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas y triterpenos los cuales podrían impactar de forma positiva y/o negativa en la salud humana.
  
6. La HFTC presenta una composición química rica en proteínas, carbohidratos y fibra dietaria. Su siembra presenta ventajas agronómicas para la producción comercial de esta leguminosa. Además, la extrusión es un proceso que puede mejorar las características nutricionales y nutracéuticas de este grano, lo cual podría ayudar a sugerir a este grano procesado como ingrediente o alimento para desarrollar alimentos funcionales con potencial nutracéutico.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 1995.** Approved Methods of the American Association of Cereal Chemist's. 9a ed. St. Paul, MN, EUA.
- Abd El-Hady E, Habiba R. 2003.** Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Wiss. U.-Technol.* 36 285–293.
- Adom KK, Liu RH. 2002.** Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6182-6187.
- Alonso R, Aguirre A, Marzo F. 2000.** Effect of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and vitro digestibility of protein and starch in faba and Kidney beans. *Food Chemistry*, 68 159-165.
- Alonso R, Orúe E, Zabalza M, Grant G, Marzo F. 2000.** Effect of extrusion cooking on structure and functional properties of pea and kidney bean proteins. *J Sci Food Agric* 80:397-403
- Anderson R, Conway H, Pfeifer V, Griffin E. 1969.** Gelatinization of corn grits by rool and extrusion cooking. *Cereal Science Today* 14:4-12. Modelo biológico para la detección de antígenos alimentarios. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 52: 249–256.
- AOAC. 1999.** Official Methods of Analysis. 16th (ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Audu S, Aremu M, Lajide L, Oko O. 2014.** Functional Properties of Processed Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Grown in Plateau State, Nigeria. *Chemical and Process Engineering Research*. ISSN 2224-7467.

- Asante I, Owusu E, Essilfie M, Kwarteng M, Amuzuah O. 2016.** Phytochemical investigation and thin layer chromatography of methanolic extracts of some selected grain legumes. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 5(3): 240-244.
- Begoña A, Farré R, Asensio C, Martín M. 2010.** Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad Dietética*. 2010; 14(2):72-76.
- Bermudez O, Tucker, K. 2003.** Trends in dietary patterns of Latin American populations. *Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro* 2003, 19 (Suppl.), 88-99.
- Bhardwaj H, Hamama A. 2004.** Protein and mineral composition of tepary bean seed. *Hort Science* 39(6): 1363-1365.
- Bhardwaj H, Hamama A. 2005.** Oil and fatty acid composition of tepary bean seed. *Hort Science* 40(5):1436-1438.
- Bisharat G, Oikonomopoulou V, Panagiotou N, Krokida M, Maroulis Z. 2013.** Effect of extrusion conditions on the structural properties of corn extrudates enriched with dehydrated vegetables. *Food Research International* 53 1–14.
- Borijindakul L, Phimolsiripol Y. 2013.** Physicochemical and functional properties of starch and germinated flours from *Dolichos lablab*. *Food and Applied Bioscience Journal*, vol.1(2): 69-80.
- Brennan C, Brennan M, Derbyshire E, Tiwari B. 2011.** Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends in Food Science & Technology* 22 570-575.
- Bressani R, Harper J, Whickstrom B. 1984.** Processed and Packaged weaning foods: Development, manufacture and marketing. Improving the nutritional status of

- children during weaning period. Mitzner N, Scrimshaw N y Morgan R (Ed.) MIT. Cambridge, MA, EUA. Pp: 51-64.
- Broadhurst RB, Jones WT. 1978.** Analysis of condensed tannins using acified vainillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 299: 788-794.
- Cabrera-Orozco A. 2011.** Evaluación de los cambios nutricionales y no nutricionales de frijol (*Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus coccineus*) por efecto de la cocción. Instituto Politécnico Nacional [Tesis Ingeniero Bioquímico]. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Ingeniería Bioquímica.
- Celis A. 2000.** Calidad de pastas de soya mexicanas y su relación con el síndrome de tránsito rápido en pollos de engorda. [Tesis de Maestro en Ciencias Pecuarias]. Universidad de Colima. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Postgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Colima, México. p 57.
- Champ M. 2002.** Non-nutrient bioactive substances of pulses. *British Journal of Nutrition* 88, Suppl. 3, S307–S319.
- Chel-Guerrero L, Pérez-Flores V, Betancur-Ancona D, Dávila-Ortiz G. 2002.** Functional Properties of Flours and Protein Isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* Seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 584-591.
- Chiu H, Peng J, Tsai S, Lui W. 2011.** Effect of Extrusion Processing on Antioxidant Activities of Corn Extrudates Fortified with Various Chinese Yams (*Dioscorea* sp.). *Food Bioprocess Technol* 5:2462-2473.
- Chundakkadu K. 2005.** Solid-State Fermentation Systems—An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:1–30, 2005.

- Delgado-Licon E, Martínez A, Rocha-Guzmán L, Gallegos-Infante J, Atienzo-Lazos M, Drzewiecki J, Martínez-Sánchez C, Gorinstein S. 2009.** Influence of extrusion on the bioactive compounds and the antioxidant capacity of the bean/corn mixtures. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(6): 522\_532.
- Dzudie T, Hardy J. 1996.** Physicochemical and Functional Properties of Flours Prepared from Common Beans and Green Mung Beans. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3029-3032
- EI-Dash A, Gonzales R, Ciol M.1983.** Response surface methodology in the control of thermoplastic extrusion of starch. *Journal of Food Engineering* 2 (1983) 129-152.
- FAOSTAT. 2014.** Disponible el 22 de noviembre de 2014 en:  
<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Fellows P. 2000.** Food processing technology: Principles and practice. 2ª ed. Woodhead, Cambridge, RU.
- Freeman George F. 1913.** The tepary; a new cultivated legume from the Southwest. *Botanical Gazette* 55(6): .395-417.
- García-Gasca T, Salazar-Olivo L, Mendiola-Olaya E, Blanco-Labra A. 2002.** The effects of a protease inhibitor fraction from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) on in vitro cell proliferation and cell adhesion of transformed cells. *Toxicology in Vitro* 16 (2002) 229-233.
- García-Gasca T, García-Cruz M, Hernández-Rivera E, López-Martínez J, Castañeda-Cuevas A, Yllescas-Gasca L, Rodríguez-Méndez A, Mendiola-Olaya E, Castro-Guillen J, Blanco-Labra A. 2012.** Effects of Tepary Bean

- (*Phaseolus acutifolius*) Protease Inhibitor and Semipure Lectin Fractions on Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*, 64(8), 1269–1278.
- Gómez-Favela M, Perales Sánchez J, Milán-Carrillo J, Romero-Navarro J, Mora-Rochín S, Gutiérrez-Dorado R y Reyes-Moreno C. 2012.** Nutraceutical beverage from germinated amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) flour with high antioxidant activity and protein content. *Supplement Cereal Foods World* 57:A47
- González de Mejía E, Guzmán-Maldonado S, Acosta-Gallegos J, Reynoso-Camacho R, Ramírez-Rodríguez E, Ponds-Hernández J, González-Chavira M, Castellanos J, Kelly J. 2003.** Effect of Cultivar and Growing Location on the Trypsin Inhibitors, Tannins, and Lectins of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Grown in the Semiarid Highlands of Mexico. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5962-5966.
- Gonzalez de Mejia E, Valdez-Vega M, Reynoso-Camacho R, Loarca-Pina G. 2005.** Tannins, Trypsin Inhibitors and Lectin Cytotoxicity in Tepary (*Phaseolus acutifolius*) and Common (*Phaseolus vulgaris*) Beans. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 137–145.
- Goñi I, García D, Calixto F. 1997.** A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research* 17: 427–437.
- Harborne, J., 1973.** *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London.
- Hauffman V, Lee C, Burns E. 1975.** Selected functional properties of sunflowermeal (*Heliantusanhus*). *Journal of Food Science* 40: 70-74.
- Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Romani A. 2005.** Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:3053-3056.

- Heiras M, Garzón J, Espinoza Moreno R, Cano M, Delgado F, Gutiérrez R, Milán J, Reyes C. 2013.** Potencial antioxidante y antimutagénico de harinas de garbanzo (*cicer arietinum* L) tipo desi extrudido. Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química (AMIDIQ) ISBN: 978-607-95593-1-1.
- Heng L, Vincken J, Hoppe K, Koningsveld G, Decroos K, Gruppen H, Boekel M, Voragen A. 2006.** Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition. *Food Chemistry* 99 326–334.
- Hernández P, Pérez E, Martínez L, Ortiz B, Martínez G. 2005.** Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. *REB* 24 (1): 21-27.
- Heywood A, Myers D, Bailey T, Johnson L. 2002.** Functional Properties of Low-Fat Soy Flour Produced by an Extrusion-Expelling System. *JAOCs*, Vol. 79, no. 12.
- Idouraine A, Tinsley A, Weber C. 1989.** Nutritional Quality and Sensory Acceptability of Akara Prepared from Germinated Tepary Beans. *Journal of food science* volume 54, No. 1.
- Idouraine A. 1993.** Isolation, characterization, functional properties and biological evaluation of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) proteins The University of Arizona. 313/761-4700 800/521-0600.
- Idouraine A, Weber C, Kohlhepp E. 1995.** Composition of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) of the Southwestern U.S. and Northern Mexico. *Ecology of Food and Nutrition*, 33:3, 139-147.
- Jiménez J, Acosta J. 2012.** Characterization of creole genotypes of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) and common (*Phaseolus vulgaris* L.) under rainfed. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.3 Núm.8.

- Jiménez J, Acosta J. 2013.** Evaluation of the yield of common (*Phaseolus vulgaris* L.) and Tepary (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) beans with the irrigation-drought method in Chihuahua. Rev. Mex. Cienc. Agríc. Vol.4 Núm.4 16 de mayo - 29 de junio, 2013.
- Jiménez-Galindo J, Acosta-Gallegos J. 2013.** Rendimiento de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y Tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) bajo el método riego-sequía en Chihuahua. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.4 Núm.4 p. 557-567.
- Kaur S, Sharma S, Singh B, Dar B. 2015.** Effect of extrusion variables (temperature, moisture) on the antinutrient components of cereal brans. Journal of Food Science and Technology, 52(3): 1670–1676.
- Korus J, Gumul D, Czechowska K. 2007.** Effect of Extrusion on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Dry Beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technol. Biotechnol.* 45 (2) 139–146.
- Lampe J. 1999.** Health effects of vegetables and fruits: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, 70 (Suppl.), 174-490.
- Levien N, Vamadevan V, Pinheiro G, Dietrich C, Zanella V, Seetharaman K, Zavareze A, Cardoso M, Berrios J. 2016.** Extrusion of Rice, Bean and Corn Starches: Extrudate Structure and Molecular Changes in Amylose and Amylopectin. *Journal of Food Science* Vol. 00, Nr. 0.
- Lin M, Humbert E, Sosulski F. 1974.** Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science* 39: 368

- Lis H, Sharon N. 1998.** Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chemical Reviews* 98: 637-674.
- López-Cobo A, Gómez-Caravaca A, Švarc-Gajic´ J, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2014.** Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of a Mediterranean plant: The case of *Satureja montana* subsp. *Kitaibelii*. *Journal of functional foods*.
- Martínez-Navarrete N, Camacho M, Martínez J. 2008.** Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética* 2 (2008) 64-8.
- Martins S, Mussatto S, Martínez-Avila G, Montañez-Saenz J, Aguilar C, Teixeira A. 2011.** Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances* 29 (2011) 365–373.
- Marzo F, Alonso R, Urdaneta E, Arricibita F, Ibañez F. 2002.** Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. *J. Anim. Sci.* 80:875–879.
- Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Armienta RE, Cárabez TA y Mora ER. 2000.** Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L). *Lebens. Wiss. u-Technology* 33: 117-123.
- Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Camacho-Hernández IL, Rouzaud-Sandez O. 2002.** Optimization of extrusion process to transform hardened chickpeas (*Cicerarietinum*L) into a useful product. *Journal Science Food Agricultural* 82: 1718-1728.
- Mora-Escobedo R, Paredes-López O, Dominguez J. 1991.** Optimization of germination procedure by response surface methodology of common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Food Microstructure* 4:183.

- Mora-Rochín S, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldívar SO, Sánchez-Peña P, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2010.** Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusión cooking. *Journal of Cereal Science* 52: 502-508.
- Morales P, Cebadera-Miranda L, Cámara R, Reis F, Barros L, Berrios J, Ferreira I, Cámara M. 2015.** Lentil flour formulations to develop new snack-type products by extrusion processing: Phytochemicals and antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods* 19 537–544.
- Muñoz Saldaña R. 2010.** Frijol, rica fuente de proteínas. *Biodiversitas*, 89:7-11
- Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA. 2012.** Use of agroindustrial wastes in solid-state fermentation processes. ISBN: 978-953-51-0253-3
- Nabhan G, Richard F. 1978.** Teparies in Southwestern North America a Biogeographical and ethnohistorical study of *Phaseolus acutifolius*. The New York Botanical Garden. Published for the Society for Economic Botany.
- Nayak B, Liu R, Tang J. 2015. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:887–918.
- Nout MJR y Kiers JL. 2005.** Tempe fermentation innovation and functionality: up-date into the 3er millennium. *Journal of Applied Microbiology*, 98:789-805.
- Obatolu V, Cole A. 2000.** Functional property of complementary blends of soybean and cowpea with malted or unmalted maize. *Food Chemistry* 70 147-153.
- Ordorica-Falomir C. 1988.** Obtencion de aislados proteicos por micelizacion y precipitacion isoelectrica a partir de pasta de cártamo. CINVESTAV-Irapuato, México.

- Orduño A. 2008.** Anatomía, fisiología y bioquímica de la raíz de plántulas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray var. *Latifolius*) en estrés hídrico. Institución de Enseñanza e investigación en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Pandey A. 2012.** Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 13 (2003) 81–84.
- Paredes-López O, Harry G. 1989.** Changes in selected chemical and antinutritional components during tempeh preparation using fresh and hardened common beans. *Journal of Food Science*, 54:968-970.
- Pak N, Ayala C, Vera G, Pennacchiotti I, Araya H. 1990.** Fibra dietaria soluble e insoluble en cereales y leguminosas cultivados en chiles. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 40:116-125.
- Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. 2014.** Phenolic compounds in food. *Department of Chemistry*, Vol. 31, No.2, pp. 68-81.
- Rathod R, Annapure U. 2016.** Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *Food Science and Technology* 66 114-123.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang Mi, Rice-Evans C. 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231-1237.
- Repo-Carrasco-Valencia R, Peña J, Kallio H, Salminen S. 2009.** Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science* 49 219–224.

- Reyes E. 2008.** History, nature and bean's nutritious quality. *Revista Investigación Científica*, Vol. 4, No. 3, ISSN 1870–8196.
- Reyes-Moreno C, Paredes-López O. 1993.** Hard-to-cook phenomenon in common beans. *Critical Reviews of Food of Science and Nutrition*, 33:227-286.
- Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Paredes-López O, Cuevas- Rodríguez EO, Garzón-Tiznado JA. 2003.** Instant flour from quality protein maize (*Zea mays* L) Optimization of the extrusion process. *Food Science and Technology* 36: 685-695.
- Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Valdez-Ortiz A, Delgado-Vargas F, Sanchez-Magaña L, Rochín-Medina J, Gutiérrez-Dorado R. 2014.** Bebida con potencial nutracéutico elaborada con maíz QPM extrudido y frijol fermentado. *Revista Iberoamericana de ciencias*. ISSN 2334-2501.
- Reynoso-Camacho R, González de Mejía E, Loarca-Piña G. 2003.** Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *Food and Chemical Toxicology* 41 (2003) 21-27.
- Rochin-Medina J, Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez E, Mora-Rochín S, Valdez-Ortiz A, Delgado-Vargas F, Reyes-Moreno C. 2015.** Bebida funcional de valor nutricional / nutracéutico alto elaborada a partir de una mezcla de granos integrales (maíz + garbanzo) extrudidos. Optimización de procesos. *Revista Iberoamericana de ciencias*. ISSN 2334-2501.
- Rodríguez-Miranda J, Ramírez-Wong B, Vivar-Vera M, Solis-Soto M, Gómez-Aldapa C, Castro-Rosas J, Medrano-Roldan H, Delgado-Licon E. 2014.** Effect of bean flour concentration (*phaseolus vulgaris* L.), moisture content and extrusion

- temperature on the functional properties of aquafeeds. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* Vol. 13, No. 3 649-663.
- Shahidi F. 2000.** Antioxidant in food and food antioxidants. *Nahrung* 44:158-163.
- Sánchez L, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2014.** Leguminosas bioprocesadas con potencial nutracéutico: Fermentación, leguminosas, bioactividad. PUBLICIA. Heinrich-Böcking-Str. 6-8, 66121 Saarbrücken, Deutschland/Alemania.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2009.** Anuarios Estadísticos de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). D. F., México. URL: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Salas-Lopez. 2015.** Efecto de la Germinación sobre la Actividad Antioxidante y Compuestos Bioactivos de Frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*). Optimización del Bioproceso. [Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos]. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad Químico biológico. Sinaloa, México.
- Salunke DK, Kadan SS, Chavan JK. 1985.** Postharvest Biotechnology of Food Legumes. CRC Press Inc (ed). Boca Ratón, Florida.
- Sathe S, Deshpande S, Alunkhe D. 1985.** Dry beans of *Phaseolus*: A review Part 2. Chemical composition: Carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. *Critical Reviews Food Science and Nutrition* 21:41.
- Sheerens J, Tinsley A, Abbas I, Weber C, Berry J. 1983.** The Nutritional Significance of Tepary Bean Consumption. Department of Nutrition and Food Science University of Arizona, Tucson.

- Shimelis, E. A. and S. K. Rakshit (2007).** "Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa." *Food Chemistry* 103(1): 161-172.
- Siddiq M, Ravi R, Harte J, Dolan K. 2010.** Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris L.*) flours. *Food Science and Technology* 43 232–237.
- Singh S, Gamlath S, Wakeling L. 2007.** Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 916-929
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, Ibanoglu S. 2009.** The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. *Food Chemistry* 114 226-232.
- Suthaya P, Galyean R, Wardlaw F.2005.** Relationship of two *in vitro* assays in protein efficiency ratio determination on selected agricultural by-products. *J. Science Technology* 2006, 28(Suppl. 1): 81-87.
- Taggarta R, Storeyb R, Bower N. 1983.** Nutritional evaluation of tepary bean: elemental analysis of seed. *Journal of plant nutrition*, 6(11), 983-988 (1983).
- Tinus T, Damour M, Van Riel V, Sopade P. 2012.** Particle size-starch–protein digestibility relationships in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering* 113 254–264.

**Tovar-Hernández C, Perafán-gil E, Enríquez-Collazos M, Pismag-Portilla Y, Ceron- Fernandez L. 2017.** Extrusion process effect evaluation on normal and germinated flour quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol. 15 No. 2 (30-38).

## ABREVIATURAS

AACC	American Association for Clinical Chemistry
AAOx	Actividad Antioxidante
AAE	Aminoácidos Esenciales
AIP	Actividad inhibitoria de proteasa
ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid)
AlCl <sub>3</sub>	Cloruro de Aluminio
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
a <sub>w</sub>	Actividad acuosa
ΔE	Diferencia de color
Bs	Base seca
°C	Grados Celsius
Ca	Calcio
cm	Centímetro
col.	Colaboradores
Cu	Cobre
Cys	Cisteína
DS	Desviación estándar
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
ECA	Equivalentes de catequina
ET	Equivalentes de Trolox
EQ	Equivalentes de quercentina
FAO	Food and Agriculture Organization
FDT	Fibra dietaria total

Fe	Hierro
Fig.	Figura
g	Gramo
g	Gravedad
h	Horas
Ha	Hectárea
HCl	Ácido Clorhídrico
hL	Hectolitro
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IAA	Índice de Absorción de Agua
IAAc	Índice de Absorción de Aceite
ISA	Índice de Solubilidad en Agua
K	Potasio
KOH	Hidroxido de potasio
Kg	Kilogramo
L	Litro
Lys	Lisina
M	Molar
MeOH	Metanol
Met	Metionina
mg	Miligramo
Mg	Magnesio
min	Minutos
mL	Mililitro

mm	Milímetros
mM	Milimolar
MSR	Metodología de Superficie de Respuesta
N	Normalidad
NaOH	Hidróxido de Sodio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Sodio
nm	Nanómetro
P	Fosforo
PER	Relación de eficiencia proteínica
pH	Potencial de Hidrógeno
ppm	Partes por millón
p/v	Relación peso/volumen
rpm	Revoluciones por minuto
seg	Segundo
Spp	Sin especie
TE	Temperatura de extrusión
TLC	Cromatografía en capa fina
Ton	Toneladas
UAH	Unidades de actividad de hemaglutinina
UIT	Unidades inhibidoras de tripsina
µL	Microlitro
µmol	Micromol
UV	Ultravioleta
vs	Versus

VT	Velocidad de tornillo
v/v	Relación volumen/volumen
Zn	Zinc